Substitutions-Reaktionen und Umlagerungen in der Reihe des Cholesterins

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von der Philosophischen Fakultät

der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Lotte Werner

aus Berlin

Tag der Promotion: 12. Juli 1933

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juni 1933

Druck von Frommhold & Wendler, Leipzig

D. R. G. M.

1933

438

Referenten: Professor Dr. Schlenk
Professor Dr. Bodenstein.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern.

Inhaltsübersicht.

A. EINLEITUNG ..... S. 7
Versuche über die Aktivierbarkeit des Cholesterins. - Isolierung antirachitisch wirksamer Bestrahlungsprodukte. - Einfluß der Ultraviolettbestrahlung auf das Ergosterinmolekül. - Saponinhämolyse. - Isomere des Cholesterins. - Formeln des Cholesterins.

B. THEORETISCHER TEIL ..... S. 15
1. Über das β-Cholesterin ..... S. 15
Diskussion der Bildungsweise . - Prüfung der Eigenschaften. - Trennung in zwei Komponenten und Untersuchung derselben. - Nebenreaktionen bei der Darstellung des β-Cholesterins. - Allocholesterin.

2. Reduktionsversuche des Cholestenons ..... S. 17

3. Umlagerungsversuche ..... S. 18
Umlagerungen des Ergosterins. -Mechanismus der Umlagerung durch Natriumäthylat. Versuch. - Umlagerungsversuche mit Zinkchlorid, Zinntetrachlorid und Titantetrachlorid.

4. Substitutionsversuche ..... S. 22
Waldensche Umkehrung. - Versuche von Schlubach. - Versuche von Holmberg. - Darstellung von Cholestadien. - Diskussion der Formel. -Normaler Cholesterylmethyläther. - Isomerer Cholesterylmethyläther. - Umlagerung der Cholesteryläther. - Hydrierung des normalen Cholesterylmethyläthers. - Hydrierung des isomeren Cholesterylmethyläthers. - Theorie z. Bildung des isomeren Cholesterylmethyläthers. - Umsetzungen mit p-Toluolsulfosäureestern. - Cholesteryl-p-toluolsulfosäureester. - Versuch einer neuen Darstellungsmethode. - Benzoylierung des Cholesterins. - Trennungsmethode des Cholesterins von seinen Estern. - Rolle des Lösungsmittels bei Substitutionsreaktionen. - Dicholesterylsulfit.

5. Molekülverbindungen des Cholesterins ..... S. 33

C. EXPERIMENTELLER TEIL ..... S. 34

Allgemeiner Teil.

Im Jahre 1926 fanden M. J. Shear und Benjamin Kramer[1], daß nach Ultraviolettbestrahlung von zehnmal umkristallisiertem Cholesterin und erneutem Umkristallisieren des Bestrahlungsproduktes aus einem Aceton-Methanol-Gemisch im Filtrat eine kleine Menge eines gelblichen Öles hinterblieb, welche zu 40% mit Digitonin unfällbar war. Die unfällbare Fraktion erwies sich als antirachitisch wirksam im Gegensatz zu der fällbaren Fraktion, welche antirachitisch unwirksam war.

Es wurden nun die verschiedensten Abkömmlinge des Cholesterins bestrahlt und auf ihre antirachitische Wirksamkeit untersucht. Charles Bill und Francis S. Mc. Donald[2] bestrahlten 1927 vier Ester und vierzehn Aether des Cholesterins; die erhaltenen Produkte waren mit Ausnahme des bestrahlten Acetats, Isobutyrats und Benzoats, die aktiviert worden waren, alle inaktiv. Auch Schultz, Ziegler und Morse[3], die α- und β-Cholesteryloxyd, Oxycholesterin und Cholestantriol der ultravioletten Bestrahlung aussetzten, erhielten unwirksame Substanzen.

Jetzt erschien es von großem Interesse, festzustellen, welche Bedingungen erfüllt sein müssen, daß Cholesterin bei Bestrahlung ein antirachitisch wirksames Produkt liefert. Mit diesem Problem beschäftigten sich die Forschungen von Otto Rosenheim und Arthur Webster[4], welche zeigten, daß die Aktivierbarkeit des Cholesterins auf eine Verunreinigung zurückzuführen ist.

Ebenso konnten A. F. Hess und A. Windaus[5] feststellen, daß die Aktivierbarkeit nicht dem Cholesterinmolekül als solchem, sondern einer Fremdbeimengung zu verdanken sei: über das Dibromid gereinigtes Cholesterin ließ sich durch ultraviolette Strahlen nicht mehr aktivieren; das Absorptionsspektrum dieses Präparates wies auch nicht mehr die charakteristische Bande auf wie das bloß durch Umkristallisieren gereinigte Cholesterin. Auch nach Überbestrahlung umkristallisiertes Cholesterin war nicht mehr aktivierbar.

---

1) Journ. Biol. Chem. 71, 213 (1926).
2) Journ. Biol. Chem. 73, 209 (1927).
3) Journ. Biol. Chem. 72, 13 (1927).
4) Biochem. Journ. 21, 389 (1927).
5) Ber. Ges. Physiol. 40, 479 (1927).

Es zeigte sich, daß die Verunreinigung die Eigenschaften eines labilen und ungesättigten Sterins besaß. Da das Ergosterin denselben Absorptionsstreifen im Ultraviolett aufweist wie das nicht gereinigte Cholesterin, schlossen Rosenheim und Webster, daß die verunreinigende Beimengung identisch mit Ergosterin sein müßte. Die Richtigkeit dieser Schlußfolgerungen wurde durch spätere Untersuchungen bestätigt. Das Ergosterin ist also eine Vorstufe des antirachitisch wirksamen Vitamins D und kann deshalb als dessen Provitamin bezeichnet werden.

Die Isolierung des antirachitisch wirksamen Bestrahlungsproduktes des Ergosterins gestaltete sich recht schwierig. Bourdillon und Mitarbeitern[1] gelang es, dieses zur Kristallisation zu bringen. Durch fraktionierte Hochvakuumdestillation konnten sie ihr "Calciferol alt" erhalten, welches leicht kristallisiert und eine gute antirachitische Wirkung aufweist. In einer Notiz in der "Nature"[2] teilten Webster und Mitarbeiter mit, daß das "Calciferol alt" entweder eine Anlagerungsverbindung oder eine isomorphe Mischung von zwei Stoffen sei, welchen sie die Namen "Calciferol" (Calciferol neu) und "Pyrocalciferol" zuerteilten. Die Trennung der beiden Stoffe von einander gelang über die Dinitro-benzoesäure-ester, die sehr verschiedene Löslichkeiten besitzen. Das "Calciferol neu" schmilzt bei 114,5 - 117° und hat ein Drehungsvermögen von $[\alpha]_D$ = + 81° (Aceton); das Pyrocalciferol schmilzt bei 92-94° und hat ein Drehungsvermögen von $[\alpha]_{Hg}$ = + 60,8° (Alkohol). "Calciferol alt" zeigt eine doppelt so große, das "Calciferol neu" eine viermal so große antirachitische Wirkung wie das internationale Standardpräparat. Pyro-calciferol ist antirachitisch unwirksam. Kurz nachdem die englischen Autoren ihre Mitteilungen gemacht hatten, erschien eine Arbeit von A. Windaus und Mitarbeitern[3], denen es nach vier Jahre langer Arbeit ebenfalls gelungen war, das Vitamin in kristallisertem, reinem Zustand zu fassen. Die Isolie- eines reinen Produktes wurde hier dadurch erreicht, daß gewisse Beimengungen, welche die Kristallisation der Substanz erschwerten, durch fraktionierte Addition an Citraconsäure-anhydrid entfernt wurden. Reerink und van Wijk[4] veröffentlichten zu der Zeit, in der Windaus und Mitarbeiter noch mit ihren Versuchen beschäftigt waren, eine Arbeit, in der die holländischen Autoren angaben, daß sie mit ultraviolettem Licht von Wellenlängen über 275 mμ

---

1) Askew, Bourdillon, Bruce, Jenkins and Webster, Proc. Roy. Soc. B 107, 76 (1930). Angus, Askew, Bourdillon, Callow, Fischmann, Philpot and Webster, Proc. Roy. Soc. B. 108, 340 (1931).
2) Askew, Bruce, Callow, Philpot, Webster, Nature 128, 758 (1931).
3) Windaus, Lüttringhaus und Deppe, A. 489, 252 (1931), Windaus, Lüttringhaus und Weidlich A. 492, 226 (1932).
4) Reerink und van Wijk, Biochem. Journ. 23, 1294 (1929).

eine Umwandlung des Ergosterins in Vitamin bis zu 60% erhalten konnten. Dieses langwellig bestrahlte Präparat sollte unter 0° kristallisierbar sein und bei Zimmertemparatur eine farblose, glasige Masse liefern. Windaus versuchte diese Darstellungsmethode zu reproduzieren, erhielt aber in höchstens 50%iger Ausbeute ein Vitamin von wesentlich geringerer Wirksamkeit, als Reerink und van Wijk angaben.

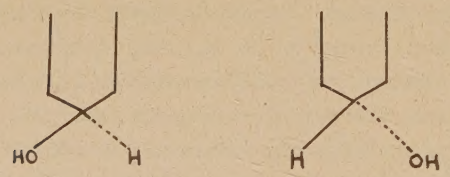
Die kristalliserten Verbindungen, welche man aus Ergosterin bei Bestrahlung mit ultraviolettem Licht erhält, sind je nach der verwendeten Wellenlänge verschiedene. Bei Verwendung von Licht welches reich an langwelligen Strahlen ist, erhält man ein Produkt, welches Windaus als "Vitamin D_1" bezeichnet; bestrahlt man jedoch mit unfiltriertem Magnesium-funkenlicht, welches seine Hauptemission bei 278-280 mμ hat, so entsteht ein Stoff, der "Vitamin D_2" genannt wird. D_1 ist schwerer löslich und schmilzt höher als D_2 und ist ungefähr zweieinhalbmal so wirksam wie der internationale Standard (s. Calciferol alt). Es ist eine Anlagerungsverbindung aus einem Molekül D_2 und einem Molekül eines isomeren Alkohols, des Lumisterins, welches selbst antirachitisch unwirksam ist. Dieses Lumisterin kann als Zwischenprodukt der Vitamin D_2-Bildung angesehen werden, da es sich in dieses durch Bestrahlung mit unfiltriertem Magnesium-Funkenlicht überführen läßt[1].

Das "Calciferol alt" der englischen Forscher ist in seinen physikalischen und chemischen Eigenschaften dem Vitamin D_1 von Windaus sehr ähnlich und zeigt auch annähernd dieselbe antirachitische Wirkung wie dieses. Der Unterschied der beiden Substanzen liegt hauptsächlich in der Drehungsfähigkeit: "Calciferol alt" besitzt mit $[\alpha]_{Hg} = +260°$ einen wesentlich höheren Drehungswert als das Vitamin D_1 mit $[\alpha]_{Hg} = +171°$. Es ist inzwischen gefunden worden, daß man aus dem Vitamin D_1 Substanzen mit ähnlich hoher Drehung erhält, nämlich wenn man es zwei Stunden im Vakuum auf 140° erhitzt[2]. Wahrscheinlich ist das "Calciferol alt" ein thermisches Umlagerungsprodukt des Vitamins D_1. Das Vitamin D_2 ist mit dem "Calciferol neu" vergleichbar. Schmelzpunkt, Misch-Schmelzpunkt, Spektrum und Drehung, sowie Spektrum und Drehung der Dinitro-benzoesäure-ester lassen diese Tatsache deutlich erkennen. Vitamin D_2 (Calciferol neu) ist also das wahre antirachitische Vitamin, im Vitamin D_1 und im "Calciferol alt" ist es mit unwirksamen Begleitern (Lumisterin, Pyrocalciferol) zu Molekülverbindungen vereinigt.

---

1) A. Windaus, Dithmar und Fernholz, A. 493, 259 (1932).
2) H.-S. 203, 70 (1931) Windaus und Lüttringhaus.

Daß das Vitamin D ein Isomeres des Ergosterins ist, wurde durch die Elementaranalyse sichergestellt; die Möglichkeit einer Polymerisation ließ sich durch eine Molekulargewichtsbestimmung ausschließen. Es ist nun zu diskutieren, welche Veränderung die Bestrahlung im Ergosterinmolekül hervorruft. Denn die physiologische Aktivierung des Ergosterins ist natürlich mit einer Änderung der chemischen Konstanten verbunden: Ergosterin besitzt eine starke Linksdrehung, welche bei der Bestrahlung langsam abnimmt und schließlich in Rechtsdrehung übergeht. Gleichzeitig erfolgt eine Veränderung des Ultraviolett-Absorptionsspektrums und eine starke Zunahme der Löslichkeit. Die Fällbarkeit durch Digitonin geht verloren. Wodurch können diese Phänomene nun hervorgerufen werden? Die Veränderungen im Absorptionsspektrum sind wahrscheinlich die Folge einer Wanderung der Doppelbindungen. Daß die Anzahl der Doppelbindungen bei der ultravioletten Bestrahlung sich nicht ändert, stellte Windaus[1] durch eine Titration mit Benzoepersäure und eine quantitative katalytische Hydrierung fest. Die Hydroxylgruppe bleibt bei der Bestrahlung erhalten[2]. Aber die Tatsache, daß die Digitoninfällbarkeit verschwindet, spricht dafür, daß eine sterische Umlagerung der Hydroxylgruppe erfolgt (Figur 1). Die Epi-Sterine, die sich von den zugehörigen Sterinen nur durch die räumliche Lage der Hydroxylgruppe unterscheiden, sind nämlich durch Digitonin nicht fällbar.



Figur 1.

Im Hinblick auf das Vitamin D schien es mir interessant, neue Methoden zur Umwandlung von Sterinen in Epi-Sterine zu suchen, aber noch aus einem anderen Grunde besitzen die Epi-Sterine Interesse. Ransom[3] stellte fest, daß die hämolytische Wirkung der Saponine durch Behandeln mit Cholesterin aufgehoben wird. Saponine haben die Eigenschaft, auf das Blut hämolysierend zu wirken, d.h. den Austritt des Blutfarbstoffs, des Hämoglobins, aus dem Stroma in die umgebende Flüssigkeit hervorzurufen. Heute ist man sich

---

1) Windaus und Lüttringhaus, A. 481, 119 (1930).
2) Windaus und Lüttringhaus, A. 481, 119 (1930).
3) Dtsch. Med. Wochenschr. 194 (1901).

über den Mechanismus der Saponin-Hämolyse soweit im klaren, daß man ihr Zustandekommen durch die Einwirkung des Saponins auf die Lipoide der Erythrocyten erklären kann. Haussmann, Abderhalden und Le Count[1] konnten die wichtige Feststellung machen, daß die entgiftende Wirkung des Cholesterins an das Vorhandensein der freien Hydroxylgruppe gebunden ist. Cholesterinester sind daher völlig wirkungslos. Cholesterin-Derivate mit besetzter Doppelbindung wirken schwächer antihämolytisch als das ursprüngliche Cholesterin. Es ist also auch hier wieder die Hydroxylgruppe, die ausschlaggebend für den ganzen Prozeß ist. Die Behauptung, daß bei diesen Prozessen eine Molekülverbindung zwischen dem Saponin und dem Cholesterin vorliegt, wurde zuerst von Kobert[2] ausgesprochen. Ihre Richtigkeit bewies Windaus[3], indem er zeigte, daß Cholesterin sich mit Digitonin im Verhältnis 1:1 verbindet und so eine besonders schön kristallisierende Molekülverbindung, das Cholesteryldigitonid, liefert, welches nicht mehr antihämolytisch wirksam ist und sich durch besondere Stabilität auszeichnet. Auch β-Cholestanol und Koprosterin wirken antihämolytisch; dagegen geht dem ε-Cholestanol und dem Pseudo-Koprosterin diese Eigenschaft ab. Dies hängt offenbar mit der Unfähigkeit der Epi-Sterine zur Digitonidbildung zusammen. Es wäre wünschenswert, diese Regel durch die Prüfung weiterer Epi-Sterine zu erhärten.

Als Ausgangsmaterial für meine Versuche wurde das am leichtesten zugängliche Sterin, das Cholesterin, gewählt. Bevor ich mich nach Methoden zur Darstellung des Epi-Cholesterins umsah, schien es mir nötig, festzustellen, ob dieses Sterin nicht schon unter einem anderen Namen bekannt wäre. In der Literatur waren folgende Isomere des Cholesterins beschrieben :

Pseudocholesterin, F.P. 116°, $[\alpha]_D$ = + 57,59° (C_6H_6)[4]

Isocholesterin, F.P. 137-138° , $[\alpha]_D$ = + 59,1 - 60° ($CHCl_3$)[5]
und F.P. 127° [6]

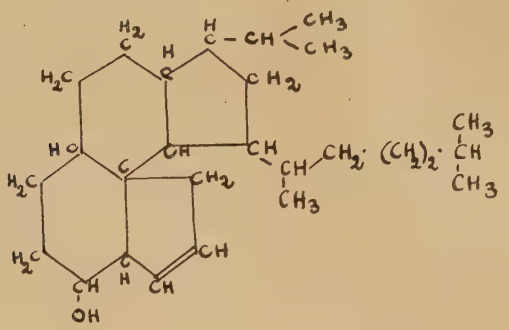
Allocholesterin, F.P. 117° [7] $[\alpha]_D$ = 0° ($CHCl_3$)[8]

β-Cholesterin, F.P. 160° [9] $[\alpha]_D$ = + 62,9° ($CHCl_3$)[10]

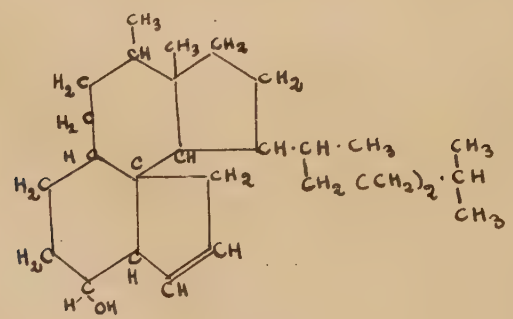
---

1) Z. f. exper. Pathol. u. Ther. 2, 199 (Abderhalden und Le Count) Wiener klin. Wochenschr. (1905) und Hofmeisters Beiträge 6, 567 (Haussmann).
2) Kobert, Beitr. z. Kenntnis von Saponinsubstanzen. S. 48 (1904).
3) Windaus, B. 47, 238 (1909).
4) Windaus, B. 48, 854 (1915).
5) Schulze, J. pr. 7, 172 (1873).
6) Lipschütz und Vietmeyer, H. S. 155, 240 (1926).
7) Windaus, A. 453, 101 (1927).
8) Eigene Bestimmung.
9) Diels und Linn, B. 41, 260 (1908).
10) Wagner-Jauregg und Werner, H. S. 208, 74 (1932).

Von diesen Formen unterscheidet sich das Allocholesterin durch die Lage der Doppelbindung, das Pseudocholesterin durch die Stellung der Hydroxylgruppe vom Cholesterin. Über die Konstitution des Isocholesterins ist nichts bekannt. Auf eine Wiedergabe von Formeln für diese Körper sei hier verzichtet, da man sich selbst über die Formel des Cholesterins noch nicht im klaren ist. Lange nahm man an, daß die Formel von Wieland und Windaus die richtige Konstitution angibt[1] :



1931 veröffentlichten Borsche und Todd[2] eine neue Formel mit einem siebengliedrigen Ring :

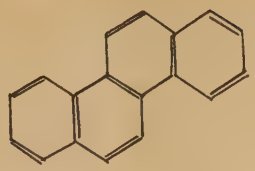


In Widerspruch zu diesen beiden Formeln steht die Tatsache, daß

---

1) Windaus, Abderhaldens Handbuch der biol. Arbeitsmethoden, Teil 6, 169 (1922).
2) H.S. 197, 179 (1931).

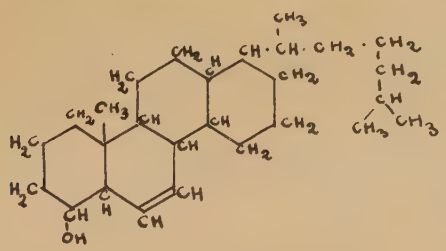
bei der katalytischen Dehydrierung des Cholesterins mit Palladium-Kohle Chrysen[1] entsteht.



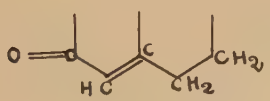
Chrysen.

Nach Rosenheim[2] soll das Chrysen-Skelett im Cholesterin bereits vorgebildet sein.

Auf die Feststellungen von Rosenheim und King Bezug nehmend schreibt Tschesche[3] dem Cholesterin folgende Formel zu :



Die Lage der Doppelbindung im Molekül charakterisiert Dane[4] am Cholestenon :

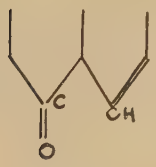


Kurz vor dem Erscheinen der Arbeit von Tschesche hatte bereits Page die Lage der Doppelbindung im Cholesterin diskutiert[5]. Er

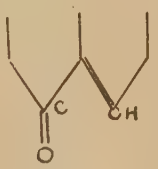
---

1) Diels und Gädke, B. 58, 1231 (1925), B. 60, 140 (1927); Raudnitz, Petru und Haurowitz, H. S. 209, 103 (1932).
2) O. Rosenheim und H. King, J. of the Soc. of chem. Ind. 22, 464 (1932). siehe auch Bernall.
3) A. 498, 185 (1932).
4) a. a. O. (s. S. 14).
5) Menschik, Page und Bossert, A. 495, 225 (1932).

wählte das Cholestonen als Ausgangsmaterial für seine Untersuchungen und stellte auf Grund des Absorptionsspektrums an Stelle der bisherigen Formel (I) eine neue auf, in welcher die Doppelbindungen zueinander konjugiert sind (II).

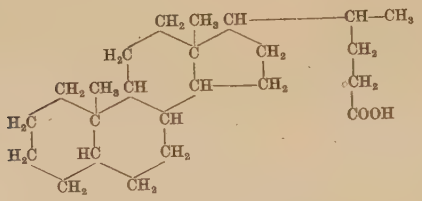


I



II

H. Wieland und E. Dane[1] stimmen in ihrer neusten Arbeit mit Rosenheim nicht überein in der Erweiterung von Ring D zum Sechsring. Ferner sind diese Autoren der Ansicht, daß die überzählige Methylgruppe an dem den Ringen A und B gemeinsamen Kohlenstoffatom haftet. Mit der experimentellen Durchführung des Konstitutionsbeweises sind sie zur Zeit noch beschäftigt, halten aber für Cholansäure die folgende Formel auf Grund ihrer bisherigen Forschungsergebnisse als die wahrscheinlichste :

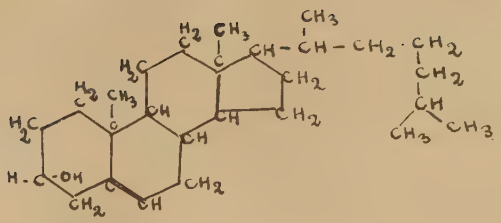


In seiner letzten Arbeit korrigiert A. Windaus[2] die von ihm aufgestellte Cholesterinformel unter Berücksichtigung der bisherigen Versuche. Die Stellung der Methylgruppen erscheint ihm allerdings noch nicht als sicher erwiesen, doch schließt er sich vorläufig der Ansicht von Wieland und E. Dane[3] an und schreibt daher dem Cholesterinmolekül die folgende Konstitution zu:

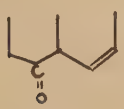
(Siehe nächste Seite)

---

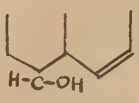
1) Wieland und Dane, H.S. 210, 275 (1932).
2) Windaus, H.S. 213, 147 (1932).
3) Wieland und Dane, a.a.O.



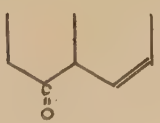
Das in der Literatur beschriebene β-Cholesterin[1] hätte seiner Darstellungsmethode nach das gesuchte Epi-Cholesterin sein können. Das β-Cholesterin entsteht nämlich als Nebenprodukt bei der Reduktion von Cholestenon mit Natrium und Aethylalkohol[2]. Es soll sich außerdem neben Cholestenon beim Erhitzen von unreinem Cholesterin auf 300-320° bilden[2]. Es wäre durchaus denkbar, daß beide Methoden die Epi-Form des Cholesterins liefern könnten :



Cholestenon

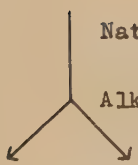


Cholesterin



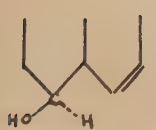
+ H_2

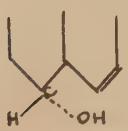
Cholestenon

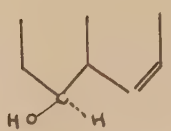


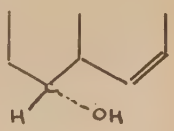
Natrium
+
Alkohol

+ H_2









---

1) Diels und Linn, B. 41, 260 (1908).
2) Diels und Linn, B. 41, 260 (1908).

Daher wurde das β-Cholesterin einer näheren Untersuchung unterzogen. Hierbei fand ich, daß das β-Cholesterin keine einheitliche Substanz, sondern eine Molekülverbindung ist. Die Digitoninfällbarkeit des β-Cholesterins ist nämlich keine vollkommene, es werden nur 50 % gefällt. Bei der Extraktion der Digitoninfällung mit Toluol erhielt ich einen Körper, der nach Elementaranalyse, Schmelzpunkt und Misch-Schmelzpunkt identisch mit Dihydrocholesterin (β-Cholestanol) ist. A. Windaus[1] hydrierte β-Cholesterin katalytisch und erhielt nach dem Umkristallisieren Dihydrocholesterin. Wahrscheinlich ging ihm durch das Umkristallisieren der hydrierten Molekülverbindung der mit Digitonin unfällbare Anteil mit den Mutterlaugen verloren, sodaß nur das schon vor der Hydrierung vorhandene Dihydrocholesterin isoliert werden konnte.

Die Bromtitration nach Kuhnhenn-Rosenmund[2] ergab, für ein Molekulargewicht von 387,4 berechnet, eine halbe Doppelbindung. Das bedeutet, da der digitoninfällbare Anteil das gesättigte Dihydrocholesterin ist, daß in der zweiten Komponente eine Doppelbindung vorhanden ist. Da sich nach Zerewitinoff in einem Molekül β-Cholesterin eine Hydroxylgruppe nachweisen ließ, dürfte die digitoninunfällbare Komponente des β-Cholesterins tatsächlich isomer mit Cholesterin sein.

Die Isolierung des digitoninunfällbaren Anteils lieferte eine Substanz, die unscharf bei 114-115° schmolz. Schmelzpunkt und Digitoninunfällbarkeit ließen mich vermuten, daß Pseudocholesterin (Schmp. 116°) vorliegen könnte, doch zeigte die Mischung der beiden Substanzen eine deutliche Schmelzpunktsdepression.

Nun wurde das β-Cholesterin katalytisch hydriert, mit Digitonin gefällt und aus dem Filtrat die hydrierte, digitoninunfällbare Komponente isoliert. Diese besaß einen Schmelzpunkt von 110-115° und ergab eine Elementaranalyse, die gut auf die Formel $C_{27}H_{48}O$ passte. Dem Schmelzpunkt nach könnte diese Substanz Pseudokoprosterin (115-116°) sein. Leider war durch das häufige Umkristallisieren soviel Substanz verloren gegangen, daß es nicht mehr möglich war, einen Mischschmelzpunkt mit Pseudokoprosterin zu nehmen.

Die Bildung von Dihydrocholesterin und Cholesterin neben β-Cholesterin bei der Reduktion von Cholestenon mit Natrium und Alkohol vermuteten bereits O. Diels und K. Linn[3]. Wirklich gelang es mir auch, alle drei Substanzen aus dem Reaktionsgemisch zu isolieren. Bei Vornahme der Reduktion in siedendem Propylalkohol war die Ausbeute an Dihydrocholesterin wesentlich vermehrt. Unter

---

1) A. 453, 11 (1927).
2) Z. f. Unters. d. Nahr. und Genußmittel, 2, 154 (1923).
3) B. 41, 266 (1908).

Verwendung von Amylalkohol hatten O. Diels und E. Abderhalden[1] diese Methode zur präparativen Darstellung des Dihydrocholesterins angewandt.

Um festzustellen, wieviel digitoninunfällbare Substanz bei der Reduktion des Cholestenons mit Natrium und Alkohol überhaupt entsteht, wurde ein rohes, einmal aus Aceton umkristallisiertes Reaktionsgemisch vom Schmelzpunkt 119° mit Digitonin behandelt: es waren zwei Drittel der Gesamtmenge fällbar.

Zusammenfassend läßt sich über das β-Cholesterin folgendes sagen :

Das β-Cholesterin ist keine einheitliche Substanz, sondern es stellt eine Molekülverbindung dar, deren eine Komponente Dihydrocholesterin und deren andere Komponente möglicherweise ein Pseudokoprostenol ist.

Mittels der Digitoninfällbarkeit versuchte ich auch das Allocholesterin auf seine Einheitlichkeit zu prüfen; doch war das verwendete Präparat zu 100% fällbar.

Da aus dem β-Cholesterin nicht das gewünschte Epi-Cholesterin isoliert werden konnte, sollte die Reduktion der Carbonylgruppe des Cholestonens mit anderen Reduktionsmitteln als mit Natrium und Aethylalkohol geprüft werden. Ich hoffte, dabei entweder das Epi-Cholesterin selbst oder β-Cholesterin in besserer Ausbeute als bei der Reduktion mit Natrium und Alkohol zu erhalten.

Als erstes Reduktionsmittel wurde Aluminiumäthylat, welches nach Meerwein[2] hergestellt wurde, auf seine Wirksamkeit geprüft. Das Cholestenon zeigte sich jedoch diesem Reduktionsmittel gegenüber als sehr widerstandsfähig; das Aluminiumäthylat wirkte weder in absolutem Methylalkohol, noch in Toluol reduzierend: das Cholestenon konnte in beiden Fällen unverändert zurückgewonnen werden.

Als zweites Reduktionsmittel wurde Magnesium gewählt, welches mit wasserfreiem Methylalkohol[3] oft eine kräftig reduzierende Wirkung besitzt. Aber auch in diesem Fall wurde das Cholestenon in keiner Weise verändert.

Da das Cholestenon sich als ein ungünstiges Ausgangsmaterial für meine Versuche erwies, zog ich es vor, die weiteren Versuche am Cholesterin und seinen Derivaten vorzunehmen. Eine Reihe von Umlagerungsversuchen sollte zeigen, ob und wie es möglich wäre, eine Isomerisierung herbeizuführen.

Die nachfolgende Tabelle gibt eine Zusammenstellung aller der-

---

1) B. 39, 889 (1906).
2) Meerwein und Schmidt, A. 444, 221 (1925).
3) Zechmeister und Bjerrum, B. 56, 897 (1923).

jenigen Cholesterin-verwandten Substanzen, deren Kenntnis in der vorliegenden Arbeit für die experimentelle Ausführung oder für die theoretischen Betrachtungen nötig war.

Name	Schmp.	$[\alpha]_D$ ($CHCl_3$)	Digitonin-fällbarkeit
Cholesterin	148,5°	- 37,8°	+
Pseudocholesterin	116°	+ 57,59° (C_6H_6)	-
Isocholesterin	137-138°	+ 59,1-60°	
Allocholesterin	117°	0°	+
Cholestan	80°	+ 24,7°	
Pseudocholestan (Koprostan)	69-70°	ca. + 24,7°	
Cholesten	89-90°	- 56,29°	
Pseudocholesten	78-79°	+ 64,9°	
Neocholesten	69°	+ 64,07°	
Cholestanol	141,5-142°	+ 28,8° [1] + 23° (Aether) [2]	+
Koprosterin	101-102°	+ 24°	+
ε -Cholestanol	181-182°	+ 34°	-
Pseudokoprosterin ♂ -Cholestanol	119°	+ 31,6°	-
β -Cholestanon	128-129°		
Koprostanon	62- 63°		-
Cholestenon	81- 82°	+ 83,8°	-

Untersuchungen über die Isomerisierung der Sterine haben bereits viele Methoden hervorgebracht, mit denen es gelingt, Umlagerungsprodukte zu erhalten. Besonders gut studiert sind die Verhältnisse beim Ergosterin[3].

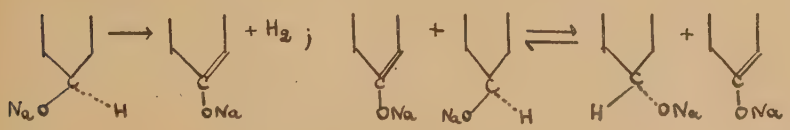
Durch Einwirkung von Chlorwasserstoff auf Ergosterylacetat erhielten Reindel und seine Mitarbeiter[4] das Isoergosterin. Eine zweite Methode zur Gewinnung isomerer Ergosterine besteht in der Anlagerung von zwei Atomen Wasserstoff und Wiederabspaltung an anderer Stelle. Auf diese Weise wurden das Ergosterin D[5] und das Ergosterin F[6] hergestellt. Eine dritte Methode zur Erhaltung isomerer Ergosterine besteht darin, daß Ergosterin oder seine Derivate mit fein verteiltem Nickel auf 220° erhitzt werden[7].

---

1) Windaus und Uibrig, B. 47, 2386 (1914).
2) Willstätter und Mayer, B. 41, 2202 (1908).
3) Windaus, Dithmar, Merke und Suckfull, A. 488, 91 (1931).
4) Reindel, Walte und Rauch, A. 452, 34 (1927).
5) Windaus und Lüttringhaus, A. 480, 126 (1930).
6) Windaus, Anhagen, Bergmann und Butte, A. 477, 272 (1930).
7) Windaus, A. 453, 101 (1927).

Kombiniert man dieses Verfahren mit der Dehydrierung und Hydrierung, so kann man zu Isomeren gelangen. Eine vierte Darstellungsmethode isomerer Ergosterine liefert die bereits erwähnte Ultraviolettbestrahlung. Fünftens ermöglicht die Behandlung gewisser Sterine[1] mit alkoholischer Natriumäthylatlösung bei 200° die Darstellung isomerer Formen. Eine sechste, kürzlich von W. Stoll[2] ausgearbeitete Methode zur Isomerisierung des Ergosterins besteht darin, Wasser aus Ergosterin abzuspalten und an den gebildeten Kohlenwasserstoffen wieder anzulagern.

Hier interessieren ganz besonders die Umlagerungen mit Natriumäthylat, durch welche man zu Epiformen gelangt; die wechselseitige Umlagerung von Koprosterin und Pseudokoprosterin durch Natriumäthylat zum Beispiel wurde schon vor längerer Zeit durch Windaus[3] gezeigt. Auf gleiche Weise lassen sich auch β-Cholestanol und ε-Cholestanol ineinander umlagern[4]. In beiden Fällen unterscheiden sich die Umlagerungsformen von ihrer Ausgangssubstanz nur durch die verschiedene räumliche Stellung der Hydroxylgruppe. Den Mechanismus dieser allgemein bei optisch-aktiven Alkoholen beobachteten Umlagerungen hat man sich nach Hückel[5] nach dem folgenden Prinzip vorzustellen :



Es wird aus dem Alkoholat durch Abspaltung von Wasserstoff eine geringe Menge Enolat eines Ketons gebildet, welches durch Alkoholat wieder hydriert wird. Letzteres geht hierbei wieder in das Enolat über. Ob dabei sterische Umlagerung der OH-Gruppe erfolgt, hängt bei Stoffen mit mehreren asymmetrischen C-Atomen von der energetischen Bevorzugung einer Form ab.

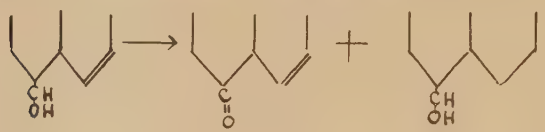
Cholestanol und Koprosterin werden durch Natriumäthylat in ihre Epi-Formen umgelagert[6]. Es schien interessant, nachzuprüfen, wie sich nun das Cholesterin gegenüber einer Einwirkung von Natrium verhalten würde. Windaus[7] hatte diesen Versuch bereits mit

---

1) Windaus und Anhagen, A. 472, 185 (1925).
2) Stoll, H. S. 202, 232 (1931).
3) Windaus, B. 49, 1733 (1917).
4) Windaus, B. 49, 1724 (1917).
5) W. Hückel, Theoretische Grundlagen der organ. Chemie, Bd. 1-5, 262.
6) Windaus und Uibrig, B. 47, 2384 (1914) und B. 48, 860 (1915).
7) Windaus, A. 453, 107 (1927).

Natriumäthylat ausgeführt. Er hatte gehofft, hierbei ein Isomeres des Cholesterins zu erhalten, welches sich von diesem durch die sterische Anordnung von Wasserstoff und Hydroxyl unterscheiden sollte. Statt der gewünschten Epiform des Cholesterins erhielt Windaus ein Gemisch von Dihydrocholesterin und Pseudokoprosterin neben wenig ε-Cholestanol und Koprosterin, d.h. also, daß die Doppelbindung hydriert worden war.

Ich versuchte die Umlagerung mit Natrium in Xylol vorzunehmen. Es resultierten nach dem Aufarbeiten des Reaktionsproduktes Kristalle, welche nach Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, Drehungswert und Elementaranalyse mit Cholestenon zu identifizieren waren. Aus den Acetonmutterlaugen konnte durch Einengen ein Körper isoliert werden, dessen Schmelzpunkt, Drehung und Elementaranalyse dazu berechtigten, ihn als Dihydrocholesterin (β-Cholestanol) anzusprechen. Aus all diesen Daten ist ersichtlich, daß beim Behandeln des Cholesterins mit Natrium in Xylol keine Umlagerung in ein isomeres Cholesterin auftritt. Statt dessen wird ein Teil des Cholesterins reduziert zu Dihydrocholesterin, während der übrige Teil in Cholestenon übergeführt wird.



Nun wollte ich einige Metallsalze, welche in der Zuckerchemie konfigurationsändernde Einflüsse auszuüben vermögen, zur Darstellung der Epi-Form des Cholesterins heranziehen. Bei den Kohlehydraten wurde z. B. das Zinkchlorid von Hudson und Dale[1] mit gutem Erfolg angewandt; es gelang den beiden Autoren, folgende Beobachtungen zu machen: Reines -l-Arabinose-tetraacetat von der spezifischen Drehung + 42,5° ($CHCl_3$) vermehrte sein Drehungsvermögen beim Erwärmen seiner Lösung in Essigsäureanhydrid mit etwas Zinkchlorid; nach eingetretener Konstanz konnten sie aus der Lösung ein zweites Tetraacetat vom Drehungsvermögen + 147,2° ($CHCl_3$) isolieren, welches das β-l-Arabinosetetraacetat vorstellte. Analog zu diesem Versuch wurde ein Versuch mit Cholesterylacetat und Zinkchlorid angesetzt. Cholesterylacetat wurde in Essigsäureanhydrid mit Zinkchlorid gelöst und erwärmt. Nach zwei Stunden hatte sich soviel Kohle ausgeschieden, daß selbst durch häufiges Umkristallisieren keine reine Substanz zu gewinnen war.

---

1) Hudson und Dale, Journ. Am. Chem. Soc. 40, 992 (1918).

Der Versuch wurde bei tieferer Temperatur wiederholt. Der Schmelzpunkt der bei diesem Versuch gewonnenen Substanz und der Mischschmelzpunkt derselben mit Cholesterylacetat ergaben, daß keine Umlagerung eingetreten war. Auch ein Versuch, wobei die Temperatur für kurze Zeit auf 100° gehalten wurde, lieferte kein positives Resultat.

Ein günstigeres Umlagerungsmittel als das Zinkchlorid ist das Zinntetrachlorid. Mit Hilfe dieses Metallsalzes gelang es Pacsu[1] eine quantitative Umlagerung von β-Acetyl-Zuckern und β-Glucosiden in die entsprechenden d-Formen zu erzielen. Unter Verwendung von Cholesterylacetat versuchte ich zunächst, ob sich rein quantitativ durch Veränderung der Drehung etwas über die Wirkung des Zinntetrachlorides aussagen ließe. Das Chloroform, in welchem die Reaktion ausgeführt wurde, war vorher über Phosphorpentoxyd destilliert worden. Das Verhältnis des Cholesterylacetats zum Zinnchlorid wurde mit 1:1 Mol angesetzt. Leider nahm die chloroformische Lösung so rasch eine dunkle Färbung an, daß der Verlauf einer etwaigen Drehungsänderung nicht zu messen war, auch nicht bei Verwendung von rotem Licht. Die aus diesem Versuch isolierte Substanz ließ sich nicht zur Kristallisation bringen, sodaß über die Einwirkung des Zinntetrachlorids auf das Cholesterylacetat nichts ausgesagt werden kann.

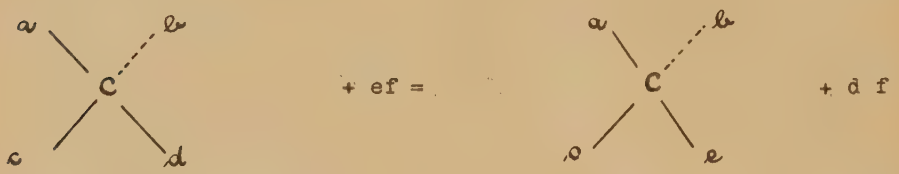
Eine ebenfalls von Pacsu[2] in der Zuckerchemie eingeführte Umlagerungsmethode bedient sich des Titantetrachlorids; dieses verwandelt z.B. acetyliertes β-Methylglucosid in einigen Stunden quantitativ in die entsprechende d-Form. Der äußerliche Verlauf der Umlagerung mit Titantetrachlorid ist ein anderer als der beim Stannichlorid. Während nämlich beim letzteren die chloroformischen Lösungen der Acetylzucker völlig klar bleiben, tritt beim Titantetrachlorid nach dem Zusammengeben der Lösungen ein stark citronengelber Niederschlag auf: das Titantetrachlorid verbindet sich unter Halochromie mit dem Glycosid zu einer in Chloroform schwer löslichen Additionsverbindung, welche sich beim Stehen wieder auflöst. Die Umlagerung ist in kurzer Zeit quantitativ vollzogen, die erhaltene Substanz von tadellosem Reinheitsgrad. Den Angaben von Pacsu entsprechend, wurde das Cholesterylchlorid in gut getrocknetem Chloroform gelöst und mit wenig Titantetrachlorid gekocht. Nach dem Aufarbeiten wurde auch hier, wie bei den anderen Versuchen dieser Reihe, die unveränderte Substanz zurückerhalten.

Da die Umlagerungsversuche mit Metallsalzen an den Chole-

---

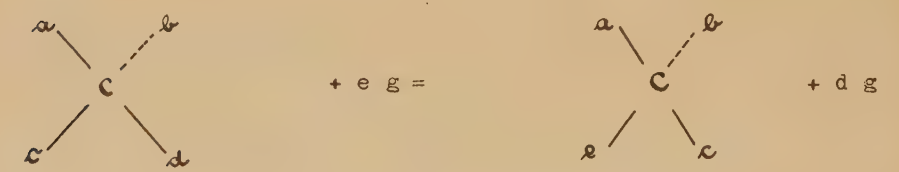
1) B. 61, 138 (1928).
2) B. 61, 1508 (1928).

sterinderivaten mißglückt waren, sollte versucht werden, ob es möglich wäre, eine sterische Umlagerung durch Substitution durchzuführen. Räumliche Umgruppierungen, die im Verlauf von Substitutionsreaktionen hervorgerufen werden, wurden bekanntlich von P. Walden[1] entdeckt und eingehend studiert. Wird an einem asymmetrischen Kohlenstoffatom der Substituent d durch einen neuen e ersetzt, so sollte man eigentlich erwarten, daß der neue Substituent an die Stelle des alten tritt :



I

Daß diese Reaktion nicht immer nach dem Schema I verläuft, bewiesen die Versuche von P. Walden, welche zeigten, daß eine Substitutionsreaktion auch einen stereochemischen Ablauf nach dem Schema II haben kann :



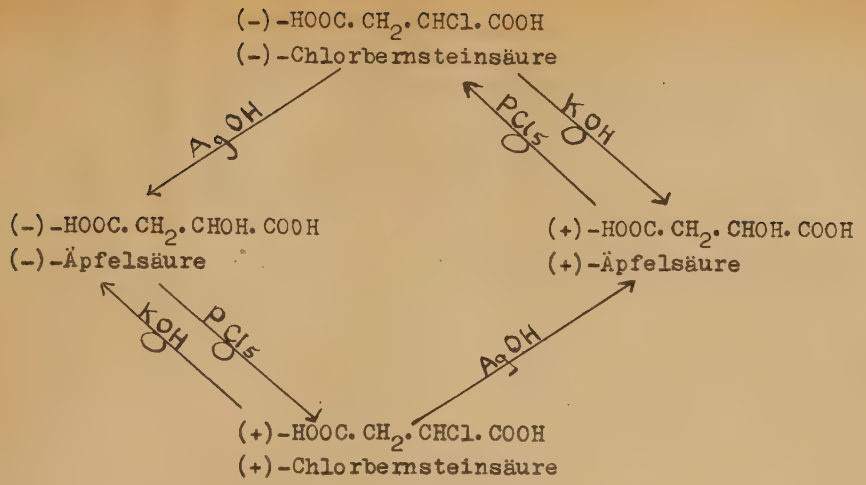
II

Das klassische Beispiel für einen Fall des Schemas II liefert die Äpfelsäure, an welcher Walden zuerst beobachtete, daß man die d-Form in die l-Form überführen kann und umgekehrt :

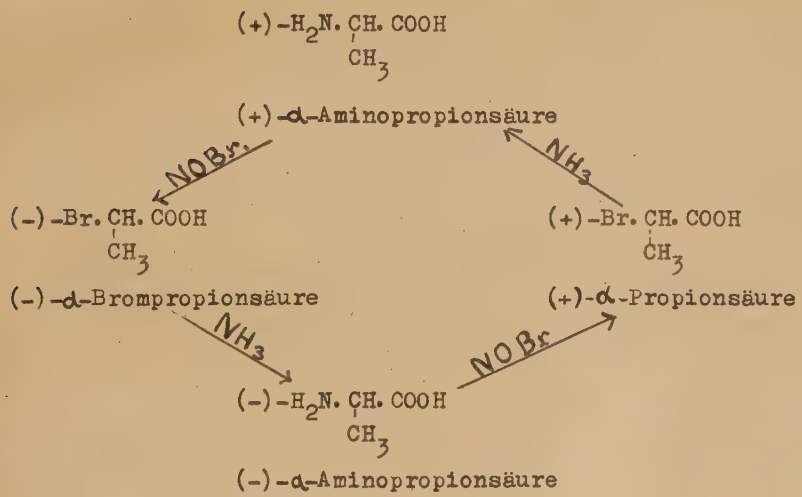
(Siehe nächste Seite)

---

1) B. 29, 133 (1896); 30, 2795 (1897); 32, 1833 (1899).



oder ein anderer Fall:



Diese Beispiele stellen durchaus keine Ausnahmefälle dar, denn das Auftreten der "Umkehrung" ist durchaus nicht auf eine bestimmte Klasse von Verbindungen beschränkt. In sehr vielen Fällen, wo an einem asymmetrischen Kohlenstoffatom Substitution stattfindet, ist eine räumliche Umlagerung der Liganden möglich.

So zeigte z.B. H. H. Schlubach[1], daß die gewöhnliche rechtsdrehende Aceto-brom-glucose mit Chlorsilber unter passend gewählten Bedingungen eine linksdrehende Aceto-chlor-glucose zu liefern

---

1) B. 59, 840 (1926).

vermag, welche eine auffallend starke Neigung zeigt, sich in Lösung in die rechtsdrehende Aceto-chlor-glucose zu verwandeln. Vermutlich findet bei dieser Einwirkung von Silberchlorid auf die halogenierten Aceto-brom-glucosen Konfigurationswechsel durch Substitution statt. Bei einem Versuch, Cholesterylbromid mit aktivem Silberchlorid nach Schlubach umzusetzen, wurde unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen.

Umlagerungsreaktionen durch Substitution an der Brombernsteinsäure wurden von Holmberg[1] näher untersucht. Holmberg ließ zunächst Jodide auf die l(-)-Brombernsteinsäure oder deren Salze wirken, erhielt aber stets mehr oder weniger racemische l(-)-Jodbernsteinsäure, mit Natriumjodid in Aceton ein völlig inaktives Produkt. Nahm er jedoch anstatt der Jodide Chloride, so gelang es ihm ohne weiteres die folgende Reaktion zu realisieren :

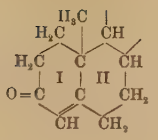
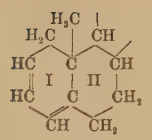
l(-)-HOOC.CHBr.CH_2.COOH + Cl' = d(+)-HOOC.CHCl.CH_2.COOH+Br'

Ließ man nun Natriumjodid auf Cholesterylbromid einwirken, so trat an Stelle der gewünschten Substitution eine Abspaltung von Bromwasserstoff aus dem Bromid ein. Es entstand ein Cholesterylen, ein zweifach ungesättigter Kohlenwasserstoff. Der erste mit Natriumjodid vorgenommene Versuch - vorgenommen in alkoholischer Lösung unter Rückfluß - lieferte ein Reaktionsprodukt, dessen Halogenbestimmung so uneinheitliche Werte gab, daß man daraus schließen musste, ein Gemisch aus Cholesterylbromid u. Cholesterylen vor sich zu haben. Daher wurde der Versuch bei erhöhter Temperatur im Bombenofen wiederholt. Die so gewonnene Substanz gab eine eindeutig negative Beilstein-Reaktion und lieferte Drehwert, Analyse und Schmelzpunkt, welche gut auf ein Cholestadien passten.

In der Literatur sind Cholesta-di-ene von sehr verschiedenem $[\alpha]_D$ beschrieben[2]. Die Frage nach der relativen Lage der zwei Doppelbindungen in den Cholestadienen ist allerdings noch nicht ganz geklärt. Da im Cholesterylbromid die Doppelbindung und das Bromatom offenbar dieselbe relative Lage besitzen wie die Doppelbindung und die Carbonylgruppe im Cholestenon (Formel I)[3], so sollte das erhaltene Cholestadien ein System konjugierter Doppelbindungen im Ring I besitzen (Formel II).

---

1) Holmberg, Journ. prakt. Chem. 88, 553 (1913).
2) Bose und Donan, Soc. 2, 2244 (1929).
3) Menschick, Page und Bossert, a.a.O. und R. Tschesche a.a.O.

I  II 

Das Cholesterylen wurde daher in Toluol mit Maleinsäureanhydrid[1] im Bombenofen auf 130° erhitzt; es erfolgte dabei aber keine Addition. Folglich läßt sich über die gegenseitige Lage der beiden Doppelbindungen im Kohlenstoffskelett des vorliegenden Cholesterylens nur aussagen, daß sie entweder nicht konjugiert oder akonjugiert sind, aber verschiedenen Ringen angehören. Es läßt sich nämlich am Modell zeigen, daß es nicht möglich ist, Maleinsäureanhydrid spannungsfrei an ein kondensiertes System von zwei Sechsringen zu addieren, in dem die beiden Doppelbindungen nicht im selben Ring sitzen.

Ein Versuch, Cholestadien durch bloßes Erhitzen von Cholesterylbromid im Bombenofen ohne Zusatz von NaJ darzustellen, mißlang; es wurde unverändertes Cholesterylbromid zurückgewonnen.

Beim Erhitzen von Cholesterylchlorid oder -bromid mit Lithiumchlorid in Alkoholen auf 125° bildeten sich die entsprechenden Cholesteryläther. Der Zusatz von Lithiumchlorid erwies sich dann später als überflüssig. Die Leichtigkeit, mit der die Cholesterylhalogenide Aether zu liefern vermögen, ist auffallend. Sie erinnern in dieser Eigenschaft an den Cholesteryl-toluol-sulfosäureester, der nach W. Stoll[2] ebenfalls schon beim Kochen mit Alkoholen in Aether übergeht. Die Analogie wird vervollständigt durch die Tatsache, daß beim Erhitzen von Cholesteryl-chlorid mit Methylalkohol und Kalium- oder Lithiumacetat der von Stoll[2] aus dem Toluolsulfosäureester des Cholesterins auf dem gleichen Wege hergestellte isomere, rechtsdrehende Cholesteryl-äther entsteht.

Zur Entscheidung der Frage, ob Isomerisierung erst nach der Verätherung erfolgt, erhitzte ich normalen Cholesterylmethyläther mit einem Mol Salzsäure und 6 Molen Kaliumacetat in Methylalkohol 16 Stunden lang auf 130°; dabei trat keine Umlagerung ein. Wurde aber der isomere Aether mit 1 Mol Salzsäure in Methylalkohol auf 130° erhitzt, dann lagerte er sich in den normalen Aether um. Die Umlagerungsversuche sprechen dafür, daß bei der Aetherbildung

---

1) Diels und Alder, B. 62, 2082)1929).
2) H.S. 207, 147 (1932).

primär der isomere Aether entsteht, der unter der Wirkung der Salzsäure in den normalen Aether umgelagert wird. Die Wirkung der Acetate beruht offensichtlich nur auf einer Abstumpfung der bei der Reaktion auftretenden Salzsäure.

Die Tatsache, daß in stark saurer Lösung die normalen, in schwach saurer die isomeren Aether entstehen, macht folgende Beobachtung verständlich: Die normalen, linksdrehenden Cholesterinäther entstehen nach O. Diels und Blumberg[1] auch beim Erhitzen von Cholesterylchlorid mit Alkoholen in Gegenwart von angeätztem Magnesium. Ich erhielt nun bei einem derartigen Ansatz den rechtsdrehenden, isomeren Cholesterylmethyläther. Es wäre denkbar, daß der Reaktionsverlauf von der Temperatur, vom Feuchtigkeitsgehalt des Alkohols und dem Zustand des Magnesiums - ob stärker oder schwächer angeätzt - beeinflußt wird. Von diesen Faktoren dürfte die Auflösungsgeschwindigkeit des Magnesiums unter Alkoholatbildung abhängen; und durch diese wird die Acidität der Lösung während der Verätherung bestimmt sein.

Die Hydrierung des normalen Cholesterylmethyläthers lieferte in guter Ausbeute ein Dihydroprodukt vom Schmelzpunkt 82,5 - 83°, das offenbar der Methyläther des Dihydrocholesterins (β-Cholestanol) ist. Dieser Aether besitzt ein $[\alpha]_D$ von + 20,0° ($CHCl_3$), seine spezifische Drehung ist also sehr ähnlich der des Dihydrocholesterins ($[\alpha]_D$ = + 23°). Auch Cholesterin und sein normaler Methyläther unterscheiden sich nur wenig in ihrem Drehungsvermögen ($[\alpha]_D$ = - 38°, bezw. - 39°). Bei 1 1/2 stündigem Erhitzen mit der sechsfachen Menge konzentrierter Salzsäure im Bombenrohr auf 100° blieb der Methyläther des Dihydrocholesterins unverändert. Beim Verseifen mit Bromwasserstoff in Eisessiglösung gab der Methyläther des β-Cholestanols ein Cholesterylbromid.

Bei der katalytischen Hydrierung des isomeren Cholesterylmethyläthers entsteht ein nicht kristallisierendes Öl[2]. Das Auftreten öliger Hydrierungsprodukte spricht dafür, daß bei der Wasserstoffaddition an den isomeren Aether ein Gemisch von Isomeren entsteht. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, daß die Doppelbindung im isomeren Aether an einer Ringverzweigungsstelle sitzt. Ich bestimmte die spezifische Drehung des Hydrierungsgemisches in Eisessig zu $[\alpha]_D$ = + 23,1°. Durch Umlösen bei tieferer Temperatur konnte ich das bei der Hydrierung entstandene Öl großenteils zur Kristallisation bringen. Die erhaltenen Kristalle besaßen die Zusammensetzung eines hydrierten Cholesterylmethyläthers und schmolzen bei 78-78,5°. Ich isolierte sie in gleicher

---

1) B. 44, 2847 (1911).
2) W. Stoll, a.a.O.

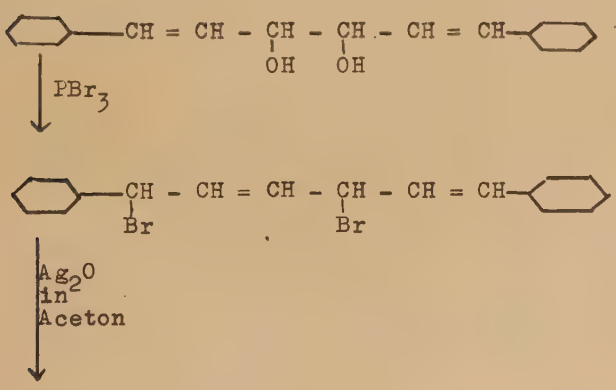
Ausbeute auch aus einem Hydrierungsgemisch, welches 1 1/2 Stunden mit konzentrierter Salzsäure im Bombenrohr auf 100° erhitzt worden war. Durch besonders leichte Verseifbarkeit zeichnet sich der hydrierte, isomere Cholesterylmethyläther demnach nicht aus.

Von den zur Diskussion stehenden Lagen der Doppelbindung im Cholestern (α, β- und γ-Stellung am Hydroxyl) scheint mir nur die α,β-Stellung die Reaktionsfähigkeit seines Toluol-sulfosäure-esters und der Cholesterylhalogenide zu erklären[1]. Die noch erörterte Möglichkeit, daß die Kohlenstoffdoppelbindung im Cholesterin eine andere Lage einnimmt, als im Cholestenon[2], wo sie nach zwei verschiedenen Methoden festgelegt wurde, ist danach auszuschließen[3]. Das Cholesterin ist somit ein substituierter Allylalkohol. Bei Substitutionsreaktionen der Cholesterylhalogenide wird man mit Umlagerungen nach dem bekannten Schema der Allylverschiebung zu rechnen haben:

$$R\text{-}C{=}C\text{-}CX \xrightarrow{YZ} XZ + R\text{-}C\text{-}C{=}C$$

Solche Verschiebungen sind in der organischen Chemie häufig verbreitet. Sie sollen hier kurz durch zwei Beispiele erläutert werden:

1.



1.)

2.)

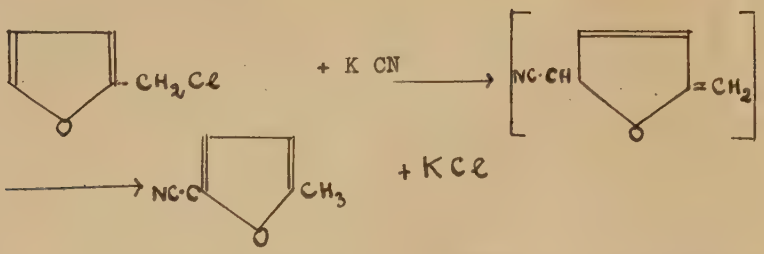
(Anmerkungen nächste Seite)

---

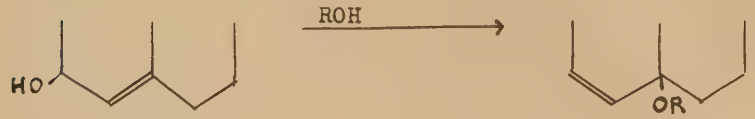
1) Mit Hydrierung der Doppelbindung geht die Reaktionsfähigkeit des Toluolsolfosäureesters verloren (W. Stoll, a. a. O. S. 149).
2) R. Tschesche, a. a. O., S. 187, Fußnote 4.
3) In diesem Zusammenhang ist auch die Feststellung zu erwähnen, daß bei der Reduktion des Cholestenons mit Natrium und Alkohol neben Dihydrocholesterin und "β-Cholesterin" auch Cholesterin entsteht. (Th. Wagner-Jauregg und L. Werner, H. S. 208, 73 (1932).

Eine Allylverschiebung kann insbesondere auch über ein Ringsystem hinweg erfolgen[3]:

2.



In der treibenden Kraft der Allylverschiebung erblicke ich die Ursache der Bildung der isomeren Aether.



(III) (IV)

Das Verhalten des hydrierten, isomeren Methyläthers beim Erhitzen mit Salzsäure stellt jedoch die Anwesenheit einer tertiären Alkoxylgruppe, die nach Formel IV zu erwarten wäre, in Frage. Vermutlich kommt die molekulare Umlagerung mit der primären Phase III $\longrightarrow$ IV nicht zum Abschluß.

Bei der Veresterung eines Alkohols mit einer Carbonsäure und beim Wiederverseifen des entstandenen Esters sind zwei Möglichkeiten denkbar, die sich im folgenden Schema veranschaulichen lassen :

Verestern:

1) $\overset{\times}{R}\text{-}O\text{-}H + HO\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}R = \overset{\times}{R}\text{-}O\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}R + H_2O$

2) $\overset{\times}{R}\text{-}OH + H\text{-}O\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}R = \overset{\times}{R}\text{-}O\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}R + H_2O$

Verseifung:

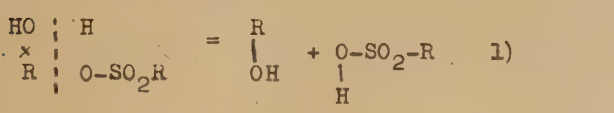
1) $H\text{-}OH + \overset{\times}{R}\text{-}O\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}R = \overset{\times}{R}\text{-}O\text{-}H + HO\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}R$

2) $HO\text{-}H + \overset{\times}{R}\text{-}O\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}R = \overset{\times}{R}\text{-}OH + H\text{-}O\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}R$

---

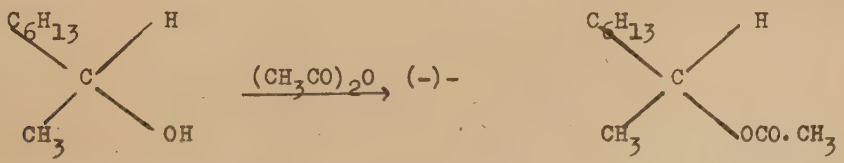
1) R. Kuhn und A. Winterstein, Helv. Chim. Acta 11, 128 (1928).
2) dto., noch nicht veröffentlicht.
3) Reichstein und Zschokke, Helv. Chim. Acta 15, 249 (1932).

Auf Grund der Tatsache, daß bei der Verseifung der Ester optisch aktiver Alkohole weder Waldensche Umkehrung noch Racemisierung beobachtet werden konnte, kann man schließen, daß die Reaktion nach dem unter 1) angegebenen Schema verläuft. Nur die Sulfonsäureester machen hier in manchen Fällen eine Ausnahme; die Verseifung kann bei ihnen tatsächlich nach dem unter 2) angegebenen Schema verlaufen :

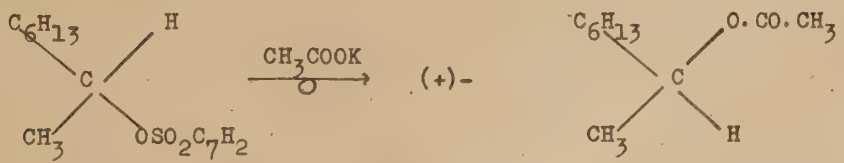


Führt man beispielsweise das (-)-Octanol mit p-Toluolsulfochlorid in den p-Toluolsulfosäureester über, so entsteht der ebenfalls linksdrehende p-Toluolsulfosäureester. Setzt man den Ester mit Kaliumacetat um[2], so entsteht ein rechtsdrehendes β-Octanolacetat. Die Tatsache, daß dagegen die Veresterung von Octanol mit Essigsäureanhydrid ohne Drehungsumkehr erfolgt, läßt die Schlußfolgerung zu, daß die Umesterung des Sulfosäureesters mit Kaliumacetat unter Umgruppierung der Substituenten erfolgt sein muß.

Schema I. Veresterung ohne Umgruppierung :



Schema II. Umesterung mit Umgruppierung :

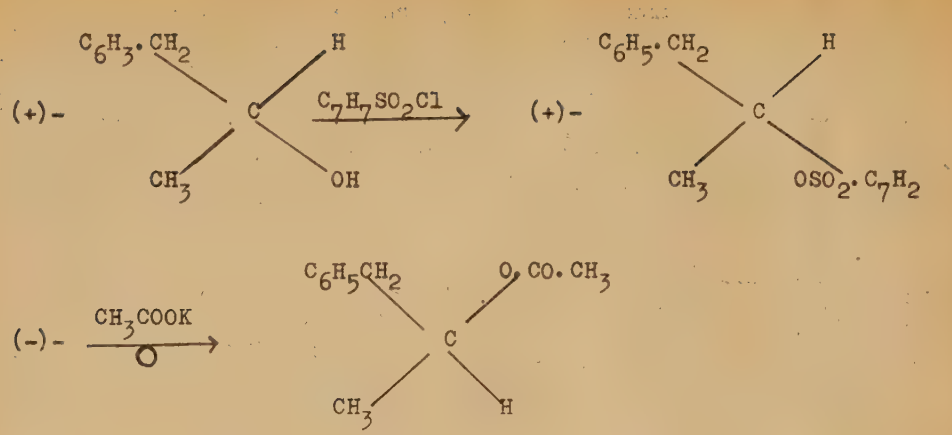


(+)-Benzyl-methyl-carbinol läßt sich ebenfalls leicht in den Toluolsulfonsäureester überführen[3], der Sulfonsäureester mit Kaliumacetat gegen den Acetylrest austauschen :

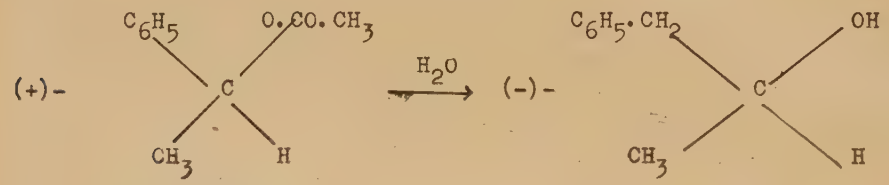
(Siehe nächste Seite)

---

1) Kenyon, Phillips u. Turley, J. chem. Soc. London 127, 399 (1925).
2) Phillips, J. chem. Soc. London, 127, 2563 (1925).
3) Phillips, Journ. chem. Soc. London, 125, 44 (1923).



Beim Verseifen des Acetats erhält man den optischen Antipoden des Alkohols (-)-Benzyl-methyl-carbinol :



Analoge Umkehrungserscheinungen wurden noch an den p-Toluolsulfonsäureestern des Aethyl-lactates[1], Menthols[2] und d- und -β Methyl-cyclo-hexanols[3] beobachtet.

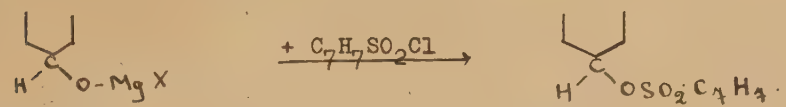
Die große Reaktionsfähigkeit der Toluolsulfonsäureester und die Tatsache, daß sie bei der Umesterung die optischen Antipoden zu liefern vermögen, gaben Anlaß zu prüfen, wie sich der p-Toluolsulfosäureester des Cholesterins[4] bei einer Umesterung verhalten würde. Die Wahrscheinlichkeit einer Walden'schen Umkehrung lag nach den bisherigen Beobachtungen immerhin recht nahe, doch zeigte es sich, daß der Cholesteryl-p-toluolsulfosäure-ester nicht in dem gewünschten Sinne reagierte; er scheint schwerer zur Umesterung zu neigen, als man nach den Estern von Phillips erwarten dürfte. Denn beim Erhitzen mit Ammoniumacetat auf 110° trat noch keine Reaktion ein. Das Acetat wirkte erst umesternd, als das Reaktionsgemisch 96 Stunden auf einer Temperatur von 145° im Bom-

---

1) Kenyon, Phillips u. Turely, Journ. chem. Soc. London 127, 399 (1925).
2) Phillips, Journ. chem. Soc. London, 127, 2563 (1925).
3) Gough, Hunen u. Kenyon, Journ. chem. Soc. London, 128, 2052 (1926).
4) Freudenberg und Hess, A. 448, 128 (1926).

benofen gehalten wurde. Es hatte sich dann aber, entgegen dem Reaktionsschema von Phillips, das normale Cholesterylacetat[1] gebildet. Der erwartete Konfigurationswechsel durch Umesterung war also nicht eingetreten. Auch durch Kochen des Toluolsolfosäureesters mit Eisessig unter Rückfluß wurde ein Acetat erhalten, welches mit dem normalen Cholesterylacetat keine Schmelzpunktsdepression ergab.

Die Darstellung von Toluolsolfosäureestern in der Sterinreihe stößt manchmal auf Schwierigkeiten; so ist es bisher noch nicht gelungen, den Ester des Ergosterins herzustellen[2]. Da nun gerade die Darstellungsmethode des p-Toluolsulfosäure-esters des Cholesterins eine sehr einfache ist, sollte versucht werden, ob es gelingt, den gleichen Ester auf eine zweite Methode zu synthetisieren, welche dann auf die übrigen Verbindungen der Sterinreihe übertragbar wäre. Eine geeignete Möglichkeit für eine solche Synthese schien die Umsetzung von Halogen-Magnesium-Alkoholaten mit Toluolsulfosäurechlorid zu sein. Die Umsetzung hätte dann nach dem folgenden Schema verlaufen sollen :



X=Halogen + MgXCl

Eine Waldensche Umkehrung ist hier auf keinen Fall zu erwarten, weil das Asymmetriezentrum von der Umsetzung nicht berührt wird.

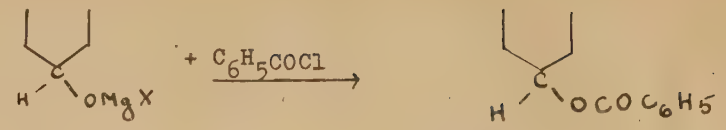
Der Versuch zeigte, daß nach der angegebenen Reaktion nicht der gesuchte Ester des Cholesterins erhalten werden konnte. Schmelzpunkt und Verseifungszahl der hierbei isolierten Substanz bestätigen, daß das Cholesterin in unveränderter Form vorlag. Auch bei erhöhter Temperatur reagierten die Substanzen nicht miteinander.

Während es nicht gelang, auf diesem Wege den p-Cholesteryl - toluolsulfosäureester darzustellen, stellte es sich heraus, daß die Benzoylierung des Cholesterins auf diese Weise zu bewirken war. Der erste Benzoylierungsversuch des Cholesterins in äthylätherischer Lösung mißlang, Verseifungszahl und Schmelzpunkt zeigten das Ausbleiben der gewünschten Reaktion an. Nun wurde ein zweiter Versuch in kochendem Amyläther vorgenommen; die hieraus resultierende Substanz konnte als das normale Cholesterylbenzoat

---

1) Reinitzer, M. 9, 428 (1888).
2) Stoll, H. S. 202, 232 (1931).

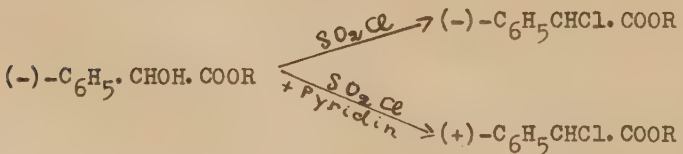
identifiziert werden.



X=Halogen + MgXCl

Kurz erwähnt sei hier noch eine Trennungsmethode des Cholesterins von den Cholesterinestern, die sich recht gut bewährt und die in der Carotinchemie bereits gute Dienste geleistet hat. Da die Trennung des Cholesterins von seinen Estern durch Umkristallisieren quantitativ nicht zu erreichen ist, empfiehlt sich eine Trennungsmethode durch Entmischen. Ein vorteilhaftes Lösungsgemisch liefert Methanol-Benzin, welches durch einen Tropfen Wasser leicht entmischbar ist. Durch zwei- bis dreimaliges Entmischen kann man eine ziemlich sorgfältige Scheidung des Cholesterins von seinen Estern erzielen. Der Ester wandert in das Benzin, das freie Cholesterin in den Methylalkohol.

Zum Schluß muß noch auf die Bedeutung des Lösungsmittels bei Substitutionsreaktionen hingewiesen werden; denn dieses kann in manchen Fällen den sterischen Verlauf einer Reaktion beeinflussen. In der Literatur sind Beispiele bekannt, wo eine sterische Reaktionslenkung durch die Gegenwart oder Abwesenheit gewisser tertiärer Basen bedingt wird[1]. Zum Beispiel:



Es wurde daher das Pyridin auf seine Reaktionslenkfähigkeit bei Substitutionsversuchen am Cholesterylmolekül geprüft. Das normale Cholesterylchlorid erhält man nach Angaben von O. Diels und Blumberg[2] aus Cholesterin und Thionylchlorid, welche in gleichen Gewichtsmengen zusammengegeben, nach längerem Stehen in der Kälte und Umkristallisieren aus der doppelten Menge Aceton das Cholesterylchlorid vom Schmelzpunkt 95° liefern. Wurde das Cholesterin in reinstem Pyridin gelöst und in der Wärme acht Stunden mit Thionylchlorid stehen gelassen, so erhielt man eine

---

1) Kenyon, Liscomp u. Phillips, Journ. chem. Soc. London, 132, 515 (1930).
2) B. 44, 2848 (1911).

Substanz, die nach Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt dem Cholesterylchlorid von Diels und Blumberg entsprach: die gewünschte sterische Reaktionslösung durch die Anwesenheit von Pyridin als Lösungsmittel war nicht eingetreten.

Der gleiche Versuch, in der Kälte ausgeführt, lieferte einen neuen Cholesterinkörper, das Dicholesterylsulfit, welches in feinen, weißen Nädelchen kristallisiert und bei 178° schmilzt. Elementaranalyse und Schwefelbestimmung passten auf die Formel

$C_{54}H_{88}SO_3$: R-O-S-OR
                    ‖
                    O

Außerdem wurde noch die Reaktionsbeeinflussung des Pyridins bei der Darstellung des Cholesterylbenzoates geprüft. Cholesterylbenzoat wird nach Obermüller[1] aus Cholesterin und Benzylchlorid dargestellt. Dem Cholesterin entsprechend, besitzt es einen negativen Drehungswert. In Pyridin verlief die Reaktion genau in der gleichen Richtung wie in Abwesenheit des Lösungsmittels, das gewonnene Cholesterylbenzoat war mit dem Cholesterylbenzoat von Obermüller identisch.

Anschließend an die Untersuchungen zur Darstellung des Epi-Cholesterins wurden noch einige Versuche über die Molekülverbindungen des Cholesterins angestellt. Wie gezeigt worden ist, ist man bei der Untersuchung der Sterine häufig Stoffen begegnet, die nach der Konstanz ihrer physikalischen Eigenschaften einheitliche chemische Individuen zu sein schienen. Erst die eingehende Untersuchung dieser Substanzen ergab, daß es sich recht oft um Stoffe handelte, die aus mehreren Komponenten zusammengesetzt waren. Es handelte sich hierbei nicht um Gemisch undefinierter Zusammensetzung, deren Einheitlichkeit durch Mischkristallbildung vorgetäuscht wurde, sondern um Molekülverbindungen, die ihre Komponenten in stöchiometrischen Mengen enthielten. Während die Bildung von Mischkristallen auf die Ähnlichkeit der Kohlenstoffskelette zurückzuführen ist, ist für die Bildung von Molekülverbindungen das Vorhandensein einer freien Hydroxylgruppe maßgebend. Die Sterine vermögen nicht nur untereinander Molekülverbindungen zu liefern[2], sondern geben solche auch mit Substanzen fremder Klassen. Daß die Saponine mit Cholesterin Molekülverbindungen liefern, war bereits eingangs gesagt. Die Sapogenine sind zu keiner Molekülverbindung fähig. Es schien mir daher interessant, zu prüfen, wie sich die dieser Klasse nahestehenden Triterpen-alkohole dem Cholesterin gegenüber verhalten würden.

---

1) H.S. 15, 42 (1891).
2) Lettré, A. 495, 41 (1932).

Der Nachweis einer organischen Molekülverbindung gestaltet sich recht einfach. Schmelzen die Komponenten unzersetzt, so nimmt man nach R. Kremann[1] die Erstarrungskurve der Komponentengemische oder wendet das Auftau- und Schmelzverfahren nach H. Rheinboldt[2] an. Aus dem Auftau- und Schmelzdiagramm läßt sich ablesen, ob zwei Komponenten eine Verbindung miteinander eingehen und wie ihre Zusammensetzung ist.

Auf ihre Fähigkeit, mit Cholesterin eine Molekülverbindung einzugehen, wurden die folgenden Triterpen-alkohole geprüft :

1) β-Amyrin $C_{30}H_{49}OH$, F.P. 193°

2) Ursolsäure $C_{30}H_{48}O_3$, F.P. 280°

Von jeder der Substanzen wurden mehrere Mischungen mit Cholesterin in den verschiedenen molaren Verhältnissen hergestellt. Die Mischungen wurden innig im Achatmörser verrieben, von einem Zusammenschmelzen wurde wegen der hohen Schmelzpunkte der Triterpen-alkohole abgesehen. Die Bestimmung der Auftau- und Schmelzpunkte wurde in einem hierfür konstruierten Apparat nach Anthes[3] vorgenommen in einem Paraffinbad. In keinem der beiden Fälle ging das Cholesterin eine Molekülverbindung ein: die Triterpenalkohole scheinen also keine Neigung zur Bildung derartiger Verbindungen gen zu haben.

Experimenteller Teil.

Darstellung des β-Cholesterins.

Nach der Vorschrift von O. Diels und K. Linn[4] wurden 20 g Cholesterin in einem weiten Reagenzglas in einem Metallbad auf eine Badtemperatur von 310-315° erhitzt, bis die Gasentwicklung aufhörte und das Reaktionsgemisch eine hellbraune Farbe annahm. Dann ließ man bis auf 150° abkühlen, goß die Masse in die fünf- bis siebenfache Menge Aceton und rührte kräftig um. Beim Erkalten sollte das β-Cholesterin als sandiges Pulver ausfallen; die mehrmals aus heißem Aceton umkristallisierte Substanz (1,5 g Aus-

1) M. 37, 370 (1916), Kremann und Grasser.
2) Journ. pr. 111, 242 (1925).
3) Houben, Methoden d. organ. Chemie I, 798 (1925).
4) B. 41, 260 (1908).

beute) sollte den Schmelzpunkt 160° besitzen. Trotz mehrfach wiederholter Versuche gelang es kein einziges Mal, diese Darstellungsweise für das β-Cholesterin zu reproduzieren. Aus dem Aceton fiel niemals ein sandiges Pulver, sondern stets ein sehr klebriges Reaktionsprodukt aus, welches sich nicht zur Kristallisation bringen ließ und daher nicht zu identifizieren war.

Scheinbar ist zur Entstehung des β-Cholesterins aus dem Cholesterin die Anwesenheit gewisser Katalysatoren notwendig, deren Natur unbekannt ist. Es wurde versucht, ob diese vielleicht in aus Eiern gewonnenem Cholesterin als natürliche Beimengung vorhanden seien[1]. Ein Versuch zeigte, daß das nicht der Fall war.

Eine andere Vorschrift zur Darstellung des β-Cholesterins, die ebenfalls von O. Diels und Linn[2] stammt, nimmt das Cholestenon als Ausgangsprodukt und bewährte sich wesentlich besser als die zuerst angegebene Darstellungsweise. Das Cholestenon läßt sich auf zwei verschiedene Wege darstellen. Nach Diels und Abderhalden[3] wird Cholesterin mit Kupferoxyd gemischt (7,5 g Kupferoxyd auf 25 g Cholesterin) und im Metallbad auf eine Badtemperatur von 290° erhitzt. Es entstanden dabei stets reichlich Nebenprodukte, die sich nur durch oftmaliges Umkristallisieren entfernen ließen. Die Ausbeute an reinem Cholestenon war deshalb eine sehr geringe. Aus diesem Grunde wurde der etwas umständliche Weg von A. Windaus[4] bevorzugt, auf dem es gelang, 60% der Theorie an Ausbeute zu erhalten. Cholesterin wurde in Cholesterindibromid übergeführt, dieses mit Kaliumpermanganat zu Cholestenondibromid oxydiert und das Brom mit Zink in Eisessig abgespalten.

Von dem so erhaltenen Cholestenon wurden je 5 g nach der Vorschrift von O. Diels und K. Linn[5] durch Einwirken von Natrium in siedendem Alkohol zu β-Cholesterin aufgearbeitet.

Es stellte sich heraus, daß es vorteilhafter war, die Reduktion in Methylalkohol vorzunehmen. Das β-Cholesterin ließ sich in diesem Falle leichter reinigen, auch die Ausbeute dürfte etwas besser sein. Aus 5 g reinem Cholestenon erhielt ich bestenfalls 0,5 g β-Cholesterin. Das reinste Präparat schmolz bei 159,5°.

Zur Analyse wurde das β-Cholesterin im Hochvakuum bei 110° getrocknet.

1) Siehe O. Diels und Linn, B. 41, 265 (1908).
R. Schönheimer, Naturw. 18, 881 (1930).
2) B. 41, 260 (1908).
3) B. 37, 3092 (1894).
4) B. 39, 518 (1906).
5) B. 41, 265 (1908).

3,773 mg Sbst. gaben 11,615 mg CO_2 und 4,057 mg H_2O.

3,694 mg Sbst. gaben 11,345 mg CO_2 und 3,995 mg H_2O.

$C_{27}H_{47}O$ = 1/2 ($C_{27}H_{46}O$ + $C_{27}H_{48}O$)

Ber. C 83,64 % H 12,23 %

Gef. C 83,95 % 83,69 % H 12,09 % 12,10 %.

Bestimmung der aktiven Wasserstoffatome :

7,885 mg Substanz (F.P. 155°) gaben 0,56 ccm CH_4 (reduziert, Versuchstemperatur 16°)

7,885 mg Substanz (F.P. 155°) gaben o,56 ccm CH_4 (reduziert, Versuchstemperatur 95°)

$C_{27}H_{47}O$; 1 akt. H Ber. 0,46 ccm CH_4

12,29 mg Substanz (F.P. 156°) gaben 0,93 ccm CH_4 (reduziert, Versuchstemperatur 17°)

12,29 mg Substanz (F.P. 156°) gaben 0,95 ccm CH_4 (reduziert, Versuchstemperatur 95°)

$C_{27}H_{47}O$; 1 akt. H Ber. 0,71 ccm CH_4

Die spezifische Drehung der Substanz wurde in Chloroform bestimmt.

$[\alpha]_D^{19}$ = (+ 0,75°.100) : (1. 1,084) = + 69,2° ($CHCl_3$)

Titration der Doppelbindung nach Rosenmund und Kuhnhenn[1] :

Nach Rosenmund und Kuhnhenn wurden 8 g Pyridin und 10 g konzentrierte Schwefelsäure unter Kühlung in je 20 ccm Eisessig (Kahlbaum) gelöst und dann die beiden Lösungen zusammengegeben. Zu dem Gemisch wurden 8 g Brom in 20 ccm Eisessig hinzugefügt und das Volumen mit Eisessig auf 1000 ccm ergänzt. Die Lösung hatte dann annähernd eine Normalität von 0,1.

Den Titer bestimmte man mit einer 10%igen Kaliumjodidlösung, die man im Überschuß hinzugab. Das ausgeschiedene Jod wurde dann mit Natriumthiosulfat zurücktitriert.

Um die Anzahl der Doppelbindungen im β-Cholesterin zu bestimmen, wurde eine eingewogene Menge in 10 ccm Chloroform gelöst, ein kleiner Überschuß der Pyridinsulfatdibromidlösung hinzugegeben, sodaß die Lösung schwach gelb gefärbt wurde und dann 3 - 5 Minuten stehen gelassen. Das nicht gebundene Brom wurde zurückgemessen wie bei der Titerstellung.

125,6 mg Substanz verbrauchten 3,27 ccm n/10 Pyridinsulfatdibromidlösung.

1/2 $C_{27}H_{47}O$, Ber. 3,25 ccm n/10 Pyridinsulfatdibromidlösung.

---

1) Zs. f. Unters. d. Nahr.-und Genußmittel, 2, 154 (1923).

Fällung mit Digitonin in alkoholischer Lösung nach Th.E.H. Thaysen[1].

34,7 mg Substanz lieferten 71,6 mg Digitonid, entsprechend 17,9 mg gefällter Substanz (51,6%).

89,7 mg Substanz lieferten 192,5 mg Digitonid, entsprechend 48,12 mg gefällter Substanz (53,6%).

Trennung und Untersuchung der Komponenten des β-Cholesterins.

Eine alkoholische Lösung von β-Cholesterin wurde mit der berechneten Menge Digitonin (in Alkohol) gefällt. Die aus der Digitoninfällung mittels Toluol im Stockschen Apparat[2] extrahierte und aus Alkohol umkristalliserte Substanz schmolz bei 139° und zeigte mit Dihydrocholesterin keine Schmelzpunktsdepression.

3,488 mg Substanz gaben 10,63 mg CO_2 und 3,84 mg H_2O

$C_{27}H_{48}O$	Ber. C 83,45 %	H 12,45 %
	Gef. C 83,12 %	H 12,32 % .

Das Filtrat der Digitoninfällung wurde im Vakuum eingeengt. Die ausfallende Substanz schmolz, mehrmals aus verdünntem Alkohol und verdünntem Aceton umkristallisiert, unscharf bei 114° - 115° und war offensichtlich noch unrein. Schmelzpunkt und Digitoninunfällbarkeit liessen vermuten, daß Pseudocholesterin vorliegen könnte, doch zeigte eine Mischung beider Substanzen deutliche Schmelzpunktsdepression.

Katalytische Hydrierung des β-Cholesterins.

500 mg β-Cholesterin wurden in ätherischer Lösung mit 1/3 Gewichtsmenge Platinmohr als Katalysator hydriert. Nach der Hydrierung und dem Abfiltrieren vom Platin wurde der Aether abdestilliert und die hydrierte Substanz in Alkohol mit der berechneten Menge Digitonin gefällt.

Die mit Digitonin unfällbare Komponente wurde aufgearbeitet. Das Filtrat der Digitoninfällung wurde stark eingeengt, die ausfallende Substanz zweimal aus verdünntem Aethanol umkristalli-

---

1) Biochem. Z. 62, 93 (1914).
2) B. 39, 1976 (1906).

siert. Sie schmolz nach dem Trocknen im Hochvakuum unscharf bei 110 - 115°.

3,500 mg Substanz gaben 3,915 mg H_2O und 10,735 mg CO_2

$C_{27}H_{48}O$	Ber. C 83,45 %	H 12,45 %
	Gef. C 83,64 %	H 12,51 % .

Zur Identifizierung der mit Digitonin unfällbaren Komponente sollte diese mit Dinitrobenzoylchlorid[1] in den Dinitro-Benzoesäureester übergeführt werden[2]. Nach Umkristallisieren aus 96%-igem Aethylalkohol schmolz der Ester trüb bei 142°, bei 150° trat Zersetzung ein. Die Elementaranalyse war wegen zu geringer Ausbeute an Ester nicht ausführbar.

Benzoylierung von β-Cholesterin.

Nach Angaben von Diels und Linn[3] liefert das β-Cholesterin beim Benzoylieren ein Produkt, welches mit dem normalen Cholesterylbenzoat (F.P. 150°, trüb, 177-178° klar, $[\alpha]_D = -16,2°$ ($CHCl_3$)) identisch ist. Ich benzoylierte das β-Cholesterin in Pyridin und erhielt hierbei ein rechtsdrehendes Benzoat.

0,2 g β-Cholesterin vom Schmelzpunkt 155°, in 5 ccm Pyridin gelöst, wurden mit der doppelten Menge Benzoylchlorid erst bei Zimmertemperatur stehen gelassen, schließlich kurz auf 70° erwärmt. Dann wurde mit 2n Schwefelsäure zersetzt, mit Aether aufgenommen, die ätherische Lösung bis zur neutralen Reaktion des Waschwassers mit Natriumbicarbonatlösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und der Aether abdestilliert. Der Rückstand wurde aus verdünntem Aceton umkristallisiert. Nach einmaligem Umkristallisieren schmolz das Benzoylierungsprodukt bei 125°.

$[\alpha]_D^{19} = (+ 0,12° \cdot 100) : (0,5 \cdot 0,704) = + 34,1°$ ($CHCl_3$) .

Bei nochmaligem Umkristallisieren aus Aceton schmolz die Substanz unscharf bei 135°. Mischschmelzpunkt mit Dihydrocholesterylbenzoat 135° (trüb, klar bei 144°). Schmelzpunkt des Dihydrocholesterylbenzoates 135° (trüb, klar bei 155°), Schmelzpunkt des Cholesterylbenzoates 146,5° (trüb, klar bei 178°).

1) Berend und Heymann, J. pr. 69, 455 (1904).
2) Reichstein, H. 9, 799 (1926).
3) B. 41, 264 (1908).

Nachweis von Dihydrocholesterin und Cholesterin im Reduktionsgemisch des Cholestenons.

a) direkt.

Zur Reindarstellung des β-Cholesterins aus dem rohen Reduktionsgemisch war häufiges Umkristallisieren nötig. Die vereinigten Acetonmutterlaugen wurden eingeengt, die ausfallende Substanz mehrmals aus Eisessig, Methylalkohol und Aethylalkohol umkristallisiert. Schließlich erhielt man schöne, glänzende Kristalle, vom Schmelzpunkt 138° - 139,5°. Mischschmelzpunkt mit Dihydrocholesterin 138° - 139°. Auch Cholesterin ließ sich aus den Mutterlaugen isolieren und durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt identifizieren. Die Trennung von Dihydrocholesterin und Cholesterin aus den Mutterlaugen durch fraktionierte Kristallisation war wegen der Ausbildung von Mischkristallen, welche die beiden Komponenten bilden[1], sehr mühevoll. Besser gelang die Trennung

b) über die Benzoate.

Ein Reduktionsgemisch vom Schmelzpunkt 131° wurde in Pyridin mittels Benzoylchlorid bei Zimmertemperatur benzoyliert. Nach oftmaligem Umkristallisieren aus Aceton schmolz das Benzoat bei 132,5° zu einer trüben Flüssigkeit, die bei 151° - 152° klar wurde. (Schmelzpunkt des Dihydrocholesterylbenzoates: 135° (trüb, klar bei 155°)[2].

3,431 mg Substanz gaben 10,47 mg CO_2 und 3,29 mg H_2O.

$C_{34}H_{52}O_2$	Ber. C 82,86 %	H 10,74 %
	Gef. C 83,23 %	H 10,74 % .

Beim Verseifen entstand eine Substanz, die nach dem Umkristallisieren als Alkohol bei 140° schmolz. Mischschmelzpunkt mit Dihydrocholesterin: 140°.

3,785 mg Substanz gaben 11,40 mg CO_2 und 9,135 mg H_2O.

2,342 mg Substanz gaben 6,955 mg CO_2 und 2,50 mg H_2O

$C_{27}H_{48}O$	Ber. C 83,45 %		H 12,45 %	
	Gef. C 83,61 %	83,16%	H 12,35 %	12,26 %

$[\alpha]_D^{18}$ = (+ 0,42° . 100) : (1,686 . 1) = + 24,0° (Aether)

Literaturwerte für Dihydrocholesterin: + 23° [3] und 28,8° [4].

---

1) Windaus und Uibrig, B. 47, 2384 (1914).
2) Windaus und Uibrig, B. 47, 2384 (1914).
3) Abderhalden, Bioch. Handlexikon 3, 220 (1911).
4) Willstätter und Mayer, B. 41, 2202 (1908).

Das gewonnene Dihydrocholesterin wurde noch durch sein Acetat charakterisiert, das bei 107° schmolz und den gleichen Mischschmelzpunkt mit dem Vergleichspräparat zeigte.

Aus der Mutterlauge des Dihydrocholesterylbenzoates konnten Kristalle isoliert werden, die bei 150° schmolzen (trüb, klar bei 176°) und nach dem Mischschmelzpunkt mit Cholesterylbenzoat identisch waren.

Das Auftreten von zwei Schmelzpunkten rührt von flüssigen Kristallen her, deren Auftreten beim Schmelzen von Cholesterinestern von Reinitzer[1] und O. Lehmann[2] beobachtet wurde.

Versuche, β-Cholesterin synthetisch darzustellen.

Die folgenden Kombinationen wurden auf ihren Schmelzpunkt geprüft :

1) Cholestenon + Dihydrocholesterin.
2) Cholestanon + Dihydrocholeserin .
3) Pseudocholesterin + Dihydrocholesterin.

Die Substanzen wurden im molaren Verhältnis 1:1 in Aceton gelöst, zusammengegeben und nach dem Ausfallen und Abfiltrieren abermals aus Aceton umkristallisiert. Es ergaben sich nach dem Trocknen die folgenden Schmelzpunkte :

ad 1) 138°
ad 2) 114°
ad 3) 93°.

Das Pseudocholesterin wurde nach Windaus und Resau[3] hergestellt. Die Darstellung geht vom Cholesterylacetat aus, welches zum β-Oxy-cholestenolacetat[4] oxydiert und dann zu Oxycholesterylen verseift wird. Bei der Reduktion mit Natrium in absolut alkoholischer Lösung liefert das Oxycholesterylen dann des Pseudocholesterin.

Untersuchung des Allocholesterins.

$[\alpha]_D^{20} = (0° \cdot 100) : (0{,}841 \cdot 1) = 0° \ (CHCl_3)$.

341,6 mg Allocholesterin gaben 1,3608 Allocholesterindigitonid, d.h. 341,6 mg Allocholesterin entsprechen 340,2 mg digitoninfällbarer Substanz.

1) M 9, 430 (1888).
2) Physikal. Zs. 7, 578 (1906).
3) B. 48, 851 (1915).
4) Mauthner und Suida, M. 17, 594 (1896).

Reduktionsversuche am Cholestenon.

a) mit Aluminiumäthylat.

Das Aluminiumäthylat wurde nach der Vorschrift von Meerwein und Schmidt[1] hergestellt. Die Wirksamkeit des Aethylates wurde nach Meerwein und Schmidt[2] an Benzoin geprüft. 30 g Benzoin wurden in 80 ccm Toluol gelöst und mit einer Auflösung von 30 g geschmolzenem Aluminiumäthylat in 50 ccm Toluol versetzt, das Gemisch unter Durchleiten von Wasserstoff gekocht. Nach achtstündigem Kochen wurde das Toluol abdestilliert, der Rückstand in Essigester gelöst und längere Zeit mit 20%iger Schwefelsäure durchgeschüttelt. Die Essigesterlösung wurde mit Soda gewaschen, über Kaliumcarbonat getrocknet, der Essigester abdestilliert und der Rückstand aus Tetrachlorkohlenstoff umkristallisiert. Dieses Produkt wurde in Pyridinlösung mit 2,5 Molen Benzoylchlorid behandelt und aus der zehnfachen Menge 96%igem Alkohol umkristallisiert. Das Dibenzoat des Isohydrobenzoins ist leicht löslich (F. P. 132°-133°), dasjenige des Hydrobenzoins fast unlöslich (F. P. 247°). Durch Verseifen erhielt man das Hydrobenzoin mit dem Schmelzpunkt 138,5° und das Isohydrobenzoin mit dem Schmelzpunkt 119,5 - 120,5°. Die Verseifung erübrigte sich in diesem Fall, denn das Vorhandensein der beiden Dibenzoate bewies bereits das Reduktionsvermögen des Aluminiumäthylats.

5 g Cholestenon wurden in 60 ccm absolutem Alkohol gelöst und 2 g geschmolzenes Aluminiumäthylat hinzugefügt. Die Mischung wurde 10 Stunden am Steigrohr gekocht und der Alkohol nach beendigter Reaktion abdestilliert, der Rückstand mit 2 n Schwefelsäure zersetzt und ausgeäthert. Nach dem Trocknen und Abdestillieren des Aethers hinterblieb eine Kristallmasse, die, zweimal aus Methylalkohol umkristallisiert, sich als unverändertes Cholestenon erwies.

Auch ein Versuch in Toluol lieferte kein günstigeres Resultat, auch hier wurde die Substanz als Cholestenon identifiziert.

b) mit Magnesium[3].

Der hierzu verwendete Methylalkohol wurde nach Zechmeister[4] präpariert. Ein Liter Methanol wurde mit 10 g blankem Magnesium versetzt und im Destillationsapparat stehen gelassen. Nach völligem Verschwinden des Metalles hielt man die Lösung einige Stunden

---

1) A. 444, 221 (1925).
2) A. 444, 234 (1925).
3) Zechmeister und Truka, B. 63, 2883 (1930).
4) Zechmeister und Bjerrum, B. 56, 897 (1923).

im Sieden und destillierte sie dann unter Fortlassen der Vorfraktion.

5 g Cholestenon wurden in 100 ccm von diesem Methylalkohol gelöst und mit 0,5 g Magnesium versetzt, zum Instandsetzen der Reaktion ein Körnchen Jod hinzugegeben. Nach Verschwinden des Metalles destillierte man den Alkohol ab und gab zu dem Rückstand unter ständigem Rühren Eiswasser, dann 80%ige Essigsäure bis zur schwach sauren Reaktion. Nach Aufnehmen mit Aether und Trocknen der ätherischen Schicht über Dicarbonat wurde der Aether abdestilliert und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Der Schmelzpunkt der so gewonnenen Substanz lag bei 75°, der Mischschmelzpunkt mit Cholestenon bei 76°.

Zur weiteren Identifizierung[1] konnte die Ketogruppe nachgewiesen werden. Die Substanz wurde in methylalkoholischer Lösung von essigsaurem Semicarbazid versetzt. Bereits nach kurzer Zeit schieden sich Flocken aus, welche sich nach mehrstündigem Stehen in Kristalle verwandelten. Diese wurden abfiltriert und mehrmals mit kaltem Methanol gewaschen. Nach dem Trocknen bei 100° hinterblieb das Semicarbazon, welches bei 222° sinterte und bei 239° schmolz.

Auch wenn das Reaktionsgemisch nach Auflösen des Magnesiums noch zwei Stunden im Sieden gehalten wurde, erwies sich das Cholestenon als nicht reduzierbar.

Umlagerungsversuche.

a) mit Natrium.

5 g Cholesterin wurden in 125 ccm Xylol mit 5 g Natrium 8 Stunden lang unter Rückfluß gekocht. Dann wurde das Xylol abdestilliert, der letzte Rest im Vakuum, der Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, mit Aether ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und der Aether abdestilliert. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton resultierten Kristalle vom Schmelzpunkt 74°, deren Mischschmelzpunkt mit Cholestenon keine Depression zeigte.

4,174 mg Substanz gaben 4,41 mg H_2O und 12,035 mg CO_2

$C_{27}H_{44}O$. Ber. C 84,4 % H 11,4 %
Gef. C 84,29 % H 11,82 %

$[\alpha]_D^{19} = (+ 1{,}00^\circ - 100) : (1 \cdot 1{,}148) = + 87{,}11^\circ$ ($CHCl_3$)

$[\alpha]_D$ für Cholestenon nach Messung am Präparat = 83,8° ($CHCl_3$).

---

1) B. 37, 3100 (1904).

Die aus der Mutterlauge isolierten Kristalle schmolzen bei 136,5° und zeigten mit Dihydrocholesterin keine Depression.

3,844 mg Substanz gaben 4,140 mg H_2O und 11,76 mg CO_2

$C_{27}H_{48}O$. Ber. C 83,5 % H 12,4 %
Gef. C 83,44 % H 12,05 %.

b) mit Zinkchlorid.

3 g Cholesterylacetat wurden in 16 ccm Essigsäureanhydrid gelöst und 0,7 g Zinkchlorid hinzugesetzt. Da sich nach zweistündigem Erwärmen auf dem Wasserbad sehr viel Kohle ausgeschieden hatte, wurde der Versuch bei einer Temperatur von 50° wiederholt. Die Lösung war wieder so stark gefärbt, daß sie nicht zu polarisieren war. Folglich wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand zweimal aus Aethylalkohol umkristallisiert. Der Schmelzpunkt der so gewonnenen Substanz betrug 110 °. (Ausgangspräparat 114°).

$[\alpha]_D^{18}$ = (Ausgangspräparat vom F.P. 114°) = (-0,96°.100) : (2,162 . 1) = - 44,4° ($CHCl_3$)

$[\alpha]_D^{18}$ = (Präparat, F.P. 110°) = (-1,40° . 100) : (3,155.1) = - 44,9° ($CHCl_3$)

Der Mischschmelzpunkt mit dem Acetat lag bei 112°.

Da also keine Umlagerung stattgefunden hatte, wurde der Versuch nochmals bei 100° ausgeführt, nur zum Unterschied von dem ersten Ansatz nach 15 Minuten unterbrochen. Aufgearbeitet wurde wie bisher. Die isolierte Substanz war wieder unverändertes Cholesterylacetat.

c) mit Zinntetrachlorid.

Cholesterylacetat wurde in der dreifachen Menge über Phosphorpentoxyd destilliertem Chloroform gelöst und mit Zinnchlorid versetzt. (Cholesterylacetat : Zinnchlorid = 1:1 Mol.) Die Lösung nahm sehr rasch eine dunkle Färbung an.

Die Flüssigkeit wurde zweimal mit Eiswasser ausgeschüttelt, die wässrige Flüssigkeit mit Chloroform nachgeschüttelt und die Chloroformschichten vereinigt. Dann wurde mit Wasser, Sodalösung und wieder Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Chloroform im Wasserbad abdestilliert, der letzte Rest im Vakuum. Es hinterblieb ein Syrup, der nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

d) mit Titantetrachlorid.

4,2 g Cholesterylchlorid würden in 30 ccm über Phosphorpentoxyd destilliertem Chloroform gelöst und mit der äquimolaren Menge Titantetrachlorid versetzt. Dann wurde 3 Stunden auf dem Wasserbad unter Luftabschluß erwärmt. Gleich zu Anfang der Reaktion trat eine intensive Rotfärbung auf. Es wurde dann mit Eiswasser geschüttelt, über Calciumchlorid getrocknet, das Lösungsmittel aus dem Wasserbad abdestilliert und der Rückstand aus absolutem Alkohol umkristallisiert. Die erhaltenen Kristalle schmolzen bei 92° und gaben mit Cholesterylchlorid keine Schmelzpunktsdepression. Auch die aus den Mutterlaugen gewonnenen Kristalle erwiesen sich als unverändertes Chlorid.

Der gleiche Versuch mit Cholesterylacetat lieferte eine schmierige Masse, die nicht zu identifizieren war. Es wurde noch einmal in der Kälte angesetzt und das Reaktionsprodukt neun Tage stehen gelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung zeigten die isolierten Kristalle einen Schmelzpunkt von 112° und gaben mit Cholesterylacetat keine Schmelzpunktserniedrigung.

e) mit Silberchlorid.

Das zu diesem Umlagerungsversuch benötigte Silberchlorid wurde nach der Vorschrift von Schlubach[1] hergestellt.

1,2 g reinstes, im Hochvakuum getrocknetes Cholesterylbromid wurde mit der vierfach berechneten Menge des nach Schlubach präparierten Silberchlorids in 10 ccm nach Schlubach gereinigtem Aether drei Stunden bei Feuchtigkeitsausschluß unter Rückfluß gekocht. Der Niederschlag wurde abfiltriert und zweimal mit Schlubach-Aether gewaschen, die Aether vereinigt, im Vakuum stark eingeengt und der Rückstand zweimal aus sehr wenig Aether umkristallisiert.

$$[\alpha]_D^{19} = (-\ 0{,}17^\circ \cdot 100) : (0{,}961 \cdot 1) = -\ 17{,}7^\circ\ (C_6H_6)$$

$[\alpha]_D$ Cholesterylbromid = $-\ 19{,}1^\circ\ (C_6H_6)$ F.P. 94,°.

f) mit Natriumjodid.

1 Mol Cholesterylbromid in Aceton wurde mit 2 Molen Natriumjodid 4 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten kristallisiert eine Substanz aus, welche - einmal aus Aceton umkristallisiert - einen Schmelzpunkt von 101,5° besaß und mit Cholesterylbromid keine Schmelzpunktsdepression gab.

---

1) B. 59, 840 (1927); B. 61, 287 (1928); B. 63, 2292 (1931).

$[\alpha]_D^{18} = (-0{,}17^\circ \cdot 100) : (0{,}892 \cdot 1) = -19{,}6^\circ$ (C_6H_6)

Literaturwert $[\alpha]_D = -19{,}14^\circ$ (C_6H_6)

5,047 mg Substanz gaben 2,179 mg AgBr
5,082 mg Substanz gaben 2,433 mg AgBr

$C_{27}H_{45}Br$	Ber.	17,78 % Br	
	Gef.	18,40 % Br	20,37 % Br

Der Versuch wurde wiederholt, die Substanzen 16 Stunden auf 125° im Bombenofen erhitzt. Die beim Abkühlen ausfallende Substanz wurde zweimal aus Aceton umkristallisiert und zeigte dann einen Schmelzpunkt von 77 - 78°.

3,773 mg Substanz gaben 4,11 mg H_2O und 12,19 mg CO_2

$C_{27}H_{48}$	Ber.	C 87,95 %	H 12,05 %
	Gef.	C 88,01 %	H 12,14 %

$[\alpha]_D^{20} = (-0{,}38^\circ \cdot 100) : (0{,}581 \cdot 1) = -65{,}4^\circ$ (Toluol).

100 mg dieses Kohlenwasserstoffes wurden 8 Stunden unter Rückfluß mit 30 mg Maleinsäureanhydrid gekocht. Da keine Substanz ausfiel, wurde das Reaktionsgemisch 16 Stunden im Bombenofen auf 200° erhitzt. Das ausgefallene Produkt schmolz bei 134-135°. (Schmelzpunkt Maleinsäure = 135°.)

1,5 g Cholesterylbromid wurde in Aceton gelöst und 16 Stunden im Bombenrohr auf 125° erhitzt. Nach Erkalten des Rohres wurden die ausgefallenen Kristalle zweimal aus Aceton umkristallisiert. F.P. 96°, Mischschmelzpunkt mit Cholesterylbromid 98°. Beilstein-Reaktion stark positiv.

Cholesteryläther.

a) normaler Cholesterylmethyläther.

Cholesterylchlorid (bezw. Bromid) wurden mit oder ohne Zusatz von Lithiumchlorid in absolutem Methanol in der Wärme gelöst und unter Rückfluß gekocht. Da hierbei keine Umsetzung auftrat, wurde im Bombenofen 16 Stunden lang auf 125° erhitzt. Nach Einengen der alkoholischen Lösung auf zwei Drittel ihres Volumens fielen schöne Nadeln aus, welche nach dem Umkristallisieren aus Aceton bei 82 - 83° schmolzen.

$[\alpha]_D^{22} = (-0{,}76^\circ \cdot 100) : (1{,}804 \cdot 1) = -42{,}1^\circ$ ($CHCl_3$)

$[\alpha]_D^{22}$ = (- 0,37° . 100) : (0,889 . 1) = - 41,62° (Eisessig)

4,667 mg Substanz gaben 2,582 mg AgJ

$C_{28}H_{48}O$. Ber. 7,75 % OCH_3
Gef. 7,30 % OCH_3.

b) normaler Cholesteryläthyläther.

Analog zum Methyläther wurde der normale Cholesteryläthyläther hergestellt. Schmelzpunkt 89°.

$[\alpha]_D^{19}$ = (- 0,32° . 100) : (0,884 . 1) = - 36,2° ($CHCl_3$)

3,682 mg Substanz gaben 11,235 mg CO_2 und 3,970 mg H_2O.

3,573 mg Substanz gaben 10,93 mg CO_2 und 3,830 mg H_2O.

$C_{29}H_{50}O$ Ber. C 83,98 % H 12,16 %
Gef. C 83,22 % 83,45% H 12,06 % 12,00 %.

3,605 mg Substanz gaben 1,917 mg AgJ

$C_{29}H_{50}O$ Ber. 10,87 % OC_2H_5
Gef. 10,20 % OC_2H_5

c) isomerer Cholesterylmethyläther.

1,5 g Cholesterylchlorid wurden mit 6 Molen Kalium- oder Lithiumacetat in absolutem Methanol sechs Stunden im Bombenofen auf 130° erhitzt und wie oben aufgearbeitet. Die Kristalle zeigten nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton und Trocknen im Hochvakuum einen Schmelzpunkt von 80°. Mit dem isomeren, nach Stoll dargestellten Cholesterylmethyläther gaben sie keine Schmelzpunktsdepression, dagegen mit dem normalen Aether.

$[\alpha]_D^{20}$ = (+ 0,89° . 100) : (1,696 . 1) = + 51,82° ($CHCl_3$)

5,120 mg Substanz gaben 3,09 mg AgJ
5,372 mg Substanz gaben 3,29 mg AgJ

$C_{28}H_{48}O$. Ber. 7,75 % OCH_3
Gef. 7,83 % OCH_3 8,09 % OCH_3.

d) Methyläther des Dihydrocholesterins.

Normaler Cholesterylmethyläther wurde in Eisessiglösung mit Platinmohr und Wasserstoff hydriert. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme trat bei Zugabe von Tetranitromethan keine Färbung auf. Der Dihydrokörper besaß nach dem Umkristallisieren aus Aceton

(flache Nadeln) den Schmelzpunkt 82,5 - 83°.

$[\alpha]_D^{20}$ = (+ 0,45° . 100) : (2,248 . 1) = + 20,0° ($CHCl_3$)

3,564 mg Substanz gaben 10,92 mg CO_2 und 3,89 mg H_2O

3,763 mg Substanz gaben 11,54 mg CO_2 und 4,20 mg H_2O

$C_{28}H_{50}O$	Ber. C 83,50 %		H 12,52 %	
	Gef. C 83,56 %	83,64 %	H 12,53 %	12,49 %.

Verseifungsversuche.

1) mit wässriger Salzsäure.

Bei eineinhalbstündigem Erhitzen mit der sechsfachen Menge konzentrierter Salzsäure im Bombenofen auf 100° blieb der hydrierte Aether unverändert.

2) mit Bromwasserstoffsäure.

0,4 g hydrierter Aether wurden in Eisessig gelöst und mit 66%iger Bromwasserstoffsäure 6 Stunden lang auf 130° im Bombenofen erhitzt. Die Lösung wurde ausgeäthert, die Aetherlösung mit Bicarbonatlösung gewaschen. Nach dem Abdampfen des Aethers hinterblieb eine Substanz, die nach mahrmaligem Umkristallisieren aus einer Aceton-Alkoholmischung bei 59-61° schmolz und eine stark positive Beilstein-Reaktion gab.

3,894 mg Substanz gaben 10,125 mg CO_2 und 3,61 mg H_2O

3,726 mg Substanz gaben 9,765 mg CO_2 und 3,55 mg H_2O

$C_{27}H_{47}Br$	Ber. C 71,79 %		H 10,50 %	
	Gef. C 70,81 %	71,07 %	H 10,38 %	10,66 %

1,157 mg Substanz gaben 0,485 mg AgBr

Ber. Br 17,71 %

Gef. Br 17,84 %.

3) mit Jodwasserstoffsäure.

550 mg hydrierter Aether wurden in Eisessig gelöst und mit Jodwasserstoffsäure, von der Dichte 1,7 , 3 Stunden lang auf 110° im Bombenofen erhitzt. Die Lösung wurde ausgeäthert, neutral gewaschen und zur Entfernung des ausgeschiedenen Jods mit Natriumthiosulfat geschüttelt. Nach dem Abdampfen des Aethers hinterblieb eine Substanz, welche nach dem Umkristallisieren aus absolutem Alkohol einen Schmelzpunkt von 75° besaß.

Hydrierung des isomeren Cholesterylmethyläthers.

Der isomere Aether wurde genauso wie der normale Aether hydriert.

$[\alpha]_D^{20} = (+ 0{,}30^\circ \cdot 100) : (1{,}300 \cdot 1) = + 23{,}1^\circ$ (Eisessig).

Nach dem Verdampfen des Eisessigs im Vakuum kristallisierte ich das ölige Hydrierungsprodukt mehrmals aus Aceton um, unter Abkühlung der Lösung mit Kohlensäureschnee - Acetonmischung. Schmelzpunkt 77,5 - 78°. Mit dem Methyläther des Dihydrocholesterins gaben die Kristalle eine Schmelzpunktsdepression.

3,779 mg Substanz gaben 12,83 mg CO_2 und 4,335 mg H_2O

$C_{28}H_{50}O$.	Ber.	C 83,50 %	H 12,52 %
	Gef.	C 83,72 %	H 12,83 %

Verseifungsversuch mit Salzsäure.

Das ölige Hydrierungsprodukt erhitzte ich mit 5 Gewichtsteilen konzentrierter Salzsäure eineinhalb Stunden auf 100° im Bombenofen. Das erhaltene Öl lieferte nach mehrmaligem Umkristallisieren aus verdünntem Aceton Kristalle vom Schmelzpunkt 78° - 78,5°, die keine Depression mit dem hydrierten Aether vom Schmelzpunkt 78-78,5° gaben.

3,624 mg Substanz gaben 11,12 mg CO_2 und 4,05 mg H_2O

3,776 mg Substanz gaben 11,60 mg CO_2 und 4,205 mg H_2O

$C_{28}H_{50}O$	Ber.	C 83,50 %		H 12,52 %	
	Gef.	C 83,68 %	83,78 %	H 12,51 %	12,47 %

Versuch, den normalen Cholesterylmethyläther aus Cholesta-di-en herzustellen.

500 mg Cholestadien wurden mit 1 Mol konzentrierter Salzsäure in Methylalkohol (Zechmeister) 16 Stunden im Bombenofen auf 125° erhitzt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus wenig A c e t o n schmolzen die isolierten Kristalle bei 79°. Mischschmelzpunkt mit Cholestadien: 79,5°; Mischschmelzpunkt mit isomerem Cholesterylmethyläther: 70-71°; Mischschmelzpunkt mit normalem Cholesterylmethyläther: 67-71°.

Zusammenfassung über die Aether des Cholesterins.

	Cholesterylbromid	Cholesterylchlorid
Methanol + Li Cl	-Cholesterylmethyl-äther	- Methyläther
$LiOOC.CH_3$		+ Methyläther
$KOOC.CH_3$		+ Methyläther
CH_3OH ohne Zusatz		- Methyläther

	$[\alpha]_D$ normale Form	F.P.	$[\alpha]_D$ isomere Form	F.P.
OH	- 38°	148,5°		
OCH_3	- 42°	83°	+ 52°	79°
2H OH	+ 29°, +23°	139°		
2H OCH_3	+ 20°	82,5-83°	+ 23°	78°

Umesterungsversuche am p-Toluolsulfosäureester des Cholesterins.

Die Darstellung des p-Toluolsulfosäureesters des Cholesterins erfolgte nach Freudenberg und Hess [1]. 1 Mol dieses Esters wurde mit 5 Molen Ammoniumacetat 96 Stunden im Bombenofen auf 110° erhitzt. Der Ester blieb unverändert. Auch bei einer Temperatursteigerung auf 125° trat noch keine Umsetzung ein.

2,5 g Ester wurden mit 5 Molen Ammoniumacetat 96 Stunden auf 145° im Bombenofen erhitzt. Der Rückstand wurde aus Alkohol umkristallisiert und schmolz bei 112°. Der Mischschmelzpunkt mit Cholesterylacetat lag bei 114°.

1,5 g Ester wurden in 25 ccm Eisessig drei Stunden unter Rückfluß gekocht. Bald trat eine prächtige Rotfärbung auf, und nach einer Weile machte sich eine Trübung bemerkbar, die durch ein ausfallendes Öl verursacht wurde. Dieses konnte nicht kristallisiert werden.

Der Versuch wurde wiederholt und für drei Stunden auf 80° im Bombenofen erhitzt. Die isolierten Kristalle schmolzen bei 113° und gaben mit Cholesterylacetat keine Schmelzpunktsdepression.

---

1) A. 448, 128 (1926).

Einwirkung von Säurechloriden auf Magnesium-cholesterylat-chlorid.

a) Toluolsulfosäurechlorid.

0,5 g Magnesiumspäne wurden in ca. 15 ccm Aethyläther mit 2,4 g Benzylchlorid behandelt und die Reaktion durch Zugabe eines Körnchens Jod beschleunigt. Unter Kühlung wurden dann 5 g Cholesterin in Amyläther hinzugefügt, der Aethyläther abdestilliert, 30 Minuten bis auf 70° erhitzt, nach dem Abkühlen Toluolsulfosäurechlorid hinzugegeben und die Temperatur auf 100° gebracht. Nach dem Erhitzen ließ man 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, zersetzte mit verdünnter Schwefelsäure, ätherte aus, trocknete die ätherische Lösung, verdampfte den Aether und kristallisierte den Rückstand aus Aceton um. Schmelzpunkt 148°, Mischschmelzpunkt mit Cholesterin: 148,5°.

$$[\alpha]_D^{19} = (-0{,}53^\circ \cdot 100) : (1{,}223 \cdot 1) = -43{,}3^\circ \ (CHCl_3)$$

Verseifungszahl = 0.

b) Benzoylchlorid.

Grignardlösung aus Magnesium, Aethyläther und Benzoylchlorid wurde unter Kühlung mit Cholesterin in Aethyläther versetzt, 30 Minuten auf 70° erhitzt und nach dem Erkalten eine ätherische Lösung von 2,7 g Benzoylchlorid hinzugegeben. Dann wurde auf 100° erhitzt und weiter aufgearbeitet wie oben angegeben. Der Rückstand wurde zunächst aus Methanol umkristallisiert, dann aus einem Essigester-Gemisch. Die Kristalle schmolzen bei 145° und zeigten eine Drehung von $[\alpha]_D = -42{,}55^\circ \ (CHCl_3)$.

10 ccm C_2H_5OH. KOH verbrauchten 19,7 ccm n/10 HCl

10 ccm C_2H_5OH. KOH + 254,6 mg Substanz verbrauchten 19,65 ccm n/10 HCl, d.h. die Verseifungszahl ist 0.

In amylätherischer Lösung ergab sich die Versuchsanordnung wie folgt: 0,5 g Magnesiumspäne wurden in 15 ccm Aethyläther unter Jodzugabe mit 2,4 g Benzylchlorid behandelt. Unter Kühlung wurden 5 g Cholesterin in Amyläther tropfenweise hinzugegeben und nach Abdestillieren des Aethyläthers eine halbe Stunde auf 30° erhitzt. Dann ließ man erkalten, fügte unter abermaliger Kühlung eine amylätherische Lösung von 2,7 g Benzoylchlorid langsam hinzu und ließ das Ganze eine Weile bei 100° stehen. Nach zwölfstündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde mit verdünnter Schwefelsäure

zersetzt, mit Aethyläther aufgenommen, getrocknet, der Aether bei gewöhnlichem Druck und der Amyläther im Vakuum destilliert.

Nach dem Umkristallisieren aus Aethylalkohol erhielt man Cholesterylbenzoat. Es schmolz bei 148° trüb, wurde bei 178° klar und zeigte eine Drehung von $[\alpha]_D = -15,6°$ ($CHCl_3$).

10 ccm C_2H_5OH.KOH verbrauchten 19,7 ccm n/10 HCl

10 ccm C_2H_5OH.KOH + 95,4 mg Benzoat verbrauchten 18,05 ccm n/10 HCl.

Ber. Äquivalentgewicht 490,4
Gef. " 477,0 .

Trennungsmethode des Cholesterins von seinen Estern.

Es wurde versucht, die in der Carotinchemie gebräuchliche Trennungsmethode durch Entmischen von Methanol-Benzinlösungen auf die Sterine zu übertragen. Cholesterin wurde eingewogen und in einem abgemessenen Gemisch Benzin-Methanol aufgenommen, dann wurden beide Lösungsmittel durch einen Tropfen Wasser entmischt. Anschließend wurde der gleiche Versuch mit einem Cholesterinester wiederholt.

1) Einwage: 233,8 mg Cholesterin.
Lösungsmittel: 25 ccm Methanol + 25 ccm Benzin (70-80°)
Volumina nach Entmischen: 43 ccm obere Schicht, 6 ccm untere Schicht.

	obere Schicht (43 ccm)	untere Schicht (6 ccm)
Drehung	- 0,09°	- 0,14°
α.ccm	0,54	6,02
Cholesterin %	8,2	91,7

2) Einwage: 555,3 mg Cholesterin.
Lösungsmittel wie oben.
Volumina nach Entmischen: 13,0 ccm obere Schicht, 37,0 ccm untere Schicht.

	obere Schicht (13 ccm)	untere Schicht(37 ccm)
Drehung	- 0,20°	- 0,02°
α.ccm	2,60	0,74
% Cholesterin	77,85	22,1

Diese Beobachtungen lassen es aussichtsreich erscheinen, Gemische von Sterinen und dem Ester durch Entmischen ihrer Methanol-Benzin-Lösungen zu trennen.

Einwirkung von Thionylchlorid auf Cholesterin in Gegenwart von Pyridin.

a) 20 g trockenes Cholesterin in 4 g reinstem Pyridin wurden mit 20 g Thionylchlorid übergossen und 8 Stunden im Ölbad auf eine Badtemperatur von 80° erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch mit Aether aufgenommen, mit verdünnter Salzsäure zersetzt und der Aether nach dem Trocknen über Natriumsulfat abdestilliert. Es hinterblieb eine braune Kristallmasse, die sorgfältig abgepresst und aus einem Gemisch von wenig Aceton und Aethylalkohol umkristallisiert wurde. Sie schmolz bei 94° und gab mit Cholesterylchlorid keine Schmelzpunktsdepression. Dicholesterylsulfid.

b) 20 g getrocknetes Cholesterin in 3,2 g Pyridin gelöst, wurden unter guter Kühlung im Eis-Kochsalz-Gemisch mit 20 g Thionylchlorid übergossen und 20 Stunden lang stehen gelassen. Der ausgefallene Kristallbrei wurde dann auf Ton abgepresst und aus Aceton umkristallisiert. Die feinen Nädelchen schmolzen bei 178°.

4,230 mg Substanz gaben 12,315 mg CO_2 und 4,115 mg H_2O

4,01 mg Substanz gaben 11,94 mg CO_2 und 4,01 mg H_2O

$C_{54}H_{88}SO_3$ Ber. C 79,48 % H 10,80 %
Gef. C 79,40 % 79,35 % H 10,80 % 10,93 %.
Ber. 3,92 % S Gef. 3,44 % S.

Bei der Verseifung mit alkoholischer Kalilauge entstand ein Körper, der als Cholesterin identifiziert wurde.

Einwirkung von Benzoylchlorid auf Cholesterin in Gegenwart von Pyridin.

2 g Cholesterin wurden in 10 ccm trockenem Pyridin mit der berechneten Menge Benzoylchlorid versetzt und 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Ausarbeitung erfolgte in der bereits bei der Benzoylierung des β-Cholesterins (S. 38) angegebenen Weise. Die so erhaltenen Kristalle schmolzen bei 150° trüb, bei 177° klar.

$[\alpha]_D^{18} = (-0{,}18° \cdot 100) : (1 \cdot 1{,}113) = -16{,}2°$ ($CHCl_3$).

Literaturwert für Cholesterylbenzoat $[\alpha]_D = -13°$ ($CHCl_3$).

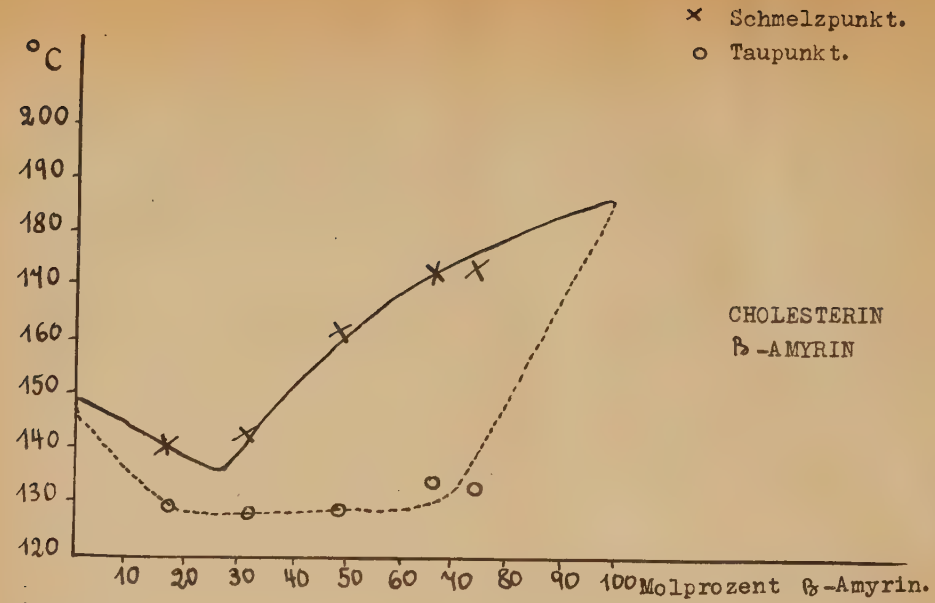
Taupunkt- und Schmelzpunktdiagramme.

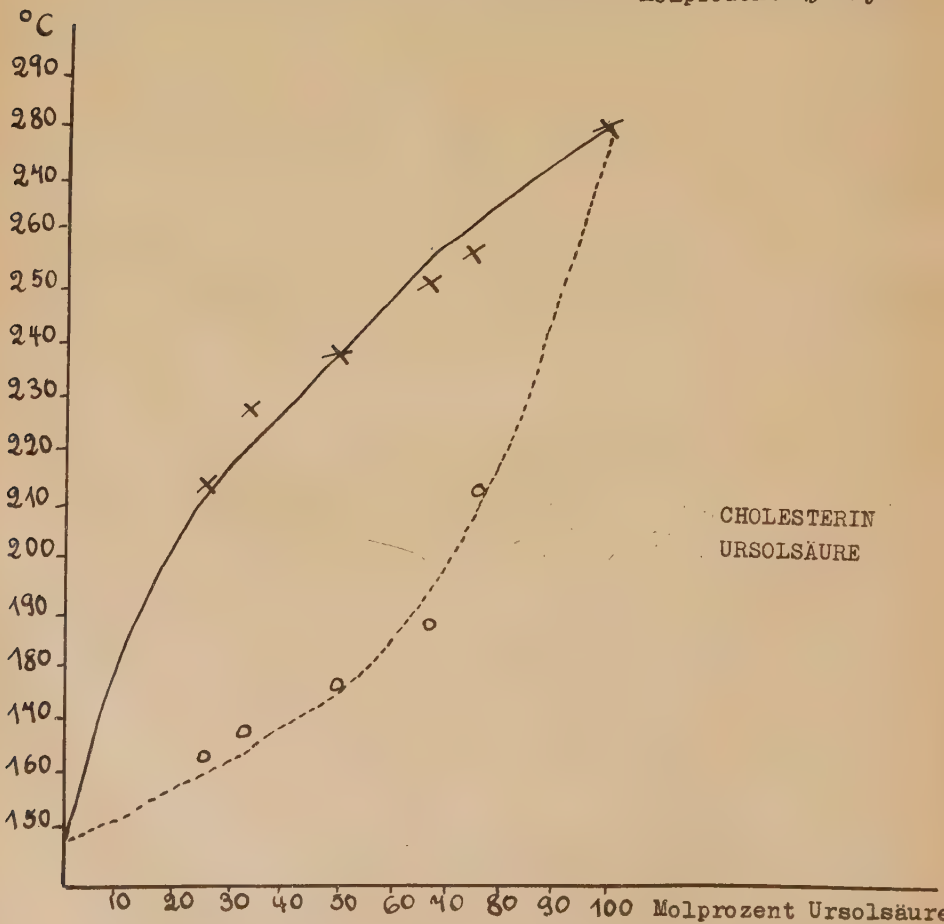
Zur Bestimmung der Tau- und Schmelzpunkte diente ein Schmelzpunktsapparat nach Anthes[1], in welchem sich hochsiedendes Paraffin befand. Die zu bestimmenden Mischungen stellte ich so her, daß die einzelnen Komponenten im Verhältnis 1:1, 1:2 etc. ihrer Molekulargewichte abgewogen und dann innig im Achatmörser verrieben wurden.

In das Schmelzpunktsröhrchen führte ich eine zugeschmolzene Kapillare ein. Bis zum Eintreten des Taupunktes beobachtete ich, ohne mit diesem zu rühren. Zeigten sich die ersten Tropfen an der Wandung des Röhrchens, so rührte ich, bis die Substanz völlig geschmolzen war. Den beobachteten Taupunkt und den Schmelzpunkt der Mischung trug ich dann in das Diagramm ein.

---

1) Houben, Methoden der organ. Chemie I, 798 (1925).


× Schmelzpunkt.
o Taupunkt.
°C
200
190
180
170
160
150
140
130
120
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Molprozent β-Amyrin.
CHOLESTERIN
β-AMYRIN


°C
290
280
270
260
250
240
230
220
210
200
190
180
170
160
150
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Molprozent Ursolsäure.
CHOLESTERIN
URSOLSÄURE

Es sei mir erlaubt, Herrn Professor Dr. Richard Kuhn und Herrn Dr. Theodor Wagner-Jauregg an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank für die stets gewährte Hilfe auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich wurde am 18. Juli 1907 in Berlin als Tochter des Arztes Dr. Edmund Werner und seiner Ehefrau Jilly geboren. Von Oktober 1913 bis Oktober 1921 besuchte ich das Hohenzollernlyceum zu Berlin-Wilmersdorf. Dann trat ich in die Obertertia der Westend-Oberrealschule zu Berlin-Westend ein und bestand Ostern 1926 an dieser Anstalt das Abiturientenexamen. Zunächst studierte ich 3 Semester Medizin an der Friedrich-Wilhelm-Universität zu Berlin und belegte gleichzeitig während eines Semesters die physikalischen Übungen an der Technischen Hochschule in Charlottenburg. Im Wintersemester 1927 begann ich meine Chemiestudien an der Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg. Nach zwei Semestern kehrte ich nach Berlin zurück und bestand zu Anfang des Sommersemesters 1928 das erste Verbandsexamen. Das organische und das physikalisch-chemische Praktikum absolvierte ich an der Universität zu Berlin, in der Zwischenzeit hörte ich ein Semester Vorlesungen an der Heidelberger Universität. Das zweite Verbandsexamen bestand ich im November 1930 in Berlin, die physikalisch-chemische Ergänzungsprüfung im Januar 1931.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Januar 1931 bis Oktober 1932 an dem Kaiser Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg, Abteilung Chemie, unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Richard Kuhn und Herrn Dr. Theodor Wagner-Jauregg ausgeführt.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen und Praktika der folgenden Herren :

Bodenstein, Dessoir, Fick, Fränkel, Freudenberg, Hesse, Hieber, Keibel, Kniep, Köhler, Kurlbaum, v. Laue, Lenard, Leuchs, E. Müller, Mislowitzer, Nernst, Ohle, Paneth, Petrone, Rona, Rubner, Sachs, Schlenk, Trautz, Virchow, Witebsky, Wolf.